

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202290107** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.03.29

(22) Дата подачи заявки
2020.06.30

(51) Int. Cl. **A61K 38/26** (2006.01)
A61P 3/08 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)

**(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ ПЕПТИДОВ, ЯВЛЯЮЩИХСЯ
КОАГОНИСТАМИ ГЛЮКАГОНА И GLP-1**

(31) **62/869,263**

(32) **2019.07.01**

(33) **US**

(86) **PCT/EP2020/068411**

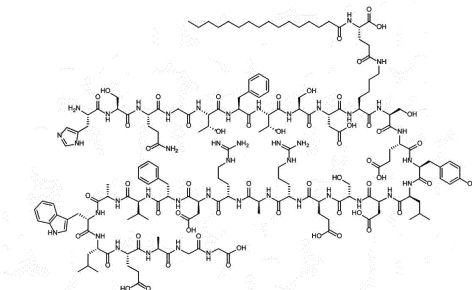
(87) **WO 2021/001374 2021.01.07**

(71) Заявитель:
МЕДИММУН ЛИМИТЕД (GB)

(72) Изобретатель:
Гомес Дос Сантос Ана Люсиа (GB)

(74) Представитель:
**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатъев
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)**

(57) Настоящее изобретение предусматривает составы для парентерального введения пептидов, являющихся агонистами GLP-1/глюкагона, способы получения таких составов и способы лечения с применением таких составов.



Молекулярная формула: C₁₆₇H₂₅₂N₄₂O₅₅
Молекулярная масса: 3728,03618
HisSerGlnGlyThrPheThrSerAspLys[Glu.C(O)C16]SerGluTyrLeuAspSer
GluArgAlaArgAspPheValAlaTrpValGluAlaGlyGly (SEQ ID NO:1)

A1

202290107

202290107

A1

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ ПЕПТИДОВ, ЯВЛЯЮЩИХСЯ КОАГОНИСТАМИ ГЛЮКАГОНА И GLP-1

ССЫЛКА НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, ПРЕДОСТАВЛЕННЫЙ В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ

- [0001]** Содержание перечня последовательностей, поданного в электронном виде в текстовом файле в формате ASCII (название GLPGG-300-WO-PCT_ST25.txt; размер: 1840 байт и дата создания: 22 июня 2020 года), поданного вместе с заявкой, включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

- [0002]** Настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям для введения пептидов, являющихся коагонистами глюкагона и GLP-1, и способам их введения.

Предпосылки изобретения

- [0003]** Ожирение представляет собой значительную и растущую проблему здравоохранения во всем мире. Оно связано со многими опасными для жизни заболеваниями, такими как сердечно-сосудистое заболевание, заболевание почек, гипертензия, инсульт, бесплодие, нарушение функции дыхательной системы и диабет 2 типа.
- [0004]** Глюкагон и глюкагоноподобный пептид 1 (GLP-1) происходят из препроглюкагона, полипептида-предшественника из 158 аминокислот, который подвергается процессингу в различных тканях с образованием ряда различных пептидов, происходящих из проглюкагона, в том числе глюкагона, глюкагоноподобного пептида 1 (GLP-1), глюкагоноподобного пептида 2 (GLP-2) и оксинтомодулина (ОХМ), которые вовлечены в широкий спектр физиологических функций, в том числе гомеостаз глюкозы, секрецию инсулина, опорожнение желудка и развитие кишечника, а также

регуляцию потребления пищи. Глюкагон представляет собой пептид из 29 аминокислот, который соответствует аминокислотам 33-61 проглюкагона (53-81 препроглюкагона), тогда как GLP-1 вырабатывается в виде пептида из 37 аминокислот, который соответствует аминокислотам 72-108 проглюкагона (92-128 препроглюкагона).

[0005] Глюкагон выделяется поджелудочной железой и взаимодействует с рецептором глюкагона ("glucR"). Глюкагон оказывает свое действие в печени с повышением уровня глюкозы в крови посредством глюконеогенеза и гликогенолиза. Когда уровень глюкозы начинает снижаться, глюкагон дает сигнал печени расщеплять гликоген и высвобождать глюкозу, что вызывает повышение уровней глюкозы в крови до нормального уровня.

[0006] GLP-1 характеризуется отличающимися биологическими активностями в сравнении с глюкагоном. Он секретируется из L-клеток кишечника и связывается с рецептором GLP-1. Его виды активности включают стимуляцию синтеза и секреции инсулина, ингибирование секреции глюкагона и подавление потребления пищи. Амид GLP-1(7-36) или кислота GLP-1(7-37) являются биологически активными формами GLP-1, которые характеризуются по сути эквивалентной активностью по отношению к рецептору GLP-1.

[0007] Было показано, что как глюкагон, так и GLP-1, действуя в качестве агонистов в отношении их соответствующих рецепторов, являются эффективными в потере веса. Определенные аналоги GLP-1 для лечения ожирения имеются в продаже или находятся на стадии разработки, в том числе, например, лираглутид (VICTOZA® от Novo Nordisk) и эксенатид (Byetta® от Eli Lilly/Amylin). Пептиды, являющиеся агонистами глюкагона/GLP-1, также были раскрыты в WO 2014/091316.

[0008] Несмотря на доступность некоторых терапевтических средств для контроля уровня глюкозы в крови, ни одно из них в настоящее время не способствует значительной потере веса, что остается существенной неудовлетворенной потребностью для пациентов. Пятьдесят процентов пациентов переходят от монотерапии пероральными лекарственными препаратами для контроля уровня глюкозы (обычно метформином) к началу приема инсулина в течение 10 лет, часто принимая многочисленные пероральные комбинированные терапевтические средства

до начала приема инсулина. Применение инсулина усиливает набор веса, что может составлять почти 6 килограмм (кг) в первый год после начала терапии инсулином. Такой набор веса может приводить к повышенной инсулинорезистентности, которая связана с гипертензией, дислипидемией и повышенным риском существенных нежелательных явлений со стороны сердечно-сосудистой системы. Что касается снижения инсулинорезистентности, значительная потеря веса (> 5%) является оптимальным вмешательством для снижения инсулинорезистентности, хотя этого в настоящее время можно достичь посредством интенсивных вмешательств в режим питания и образ жизни и/или бариатрического хирургического вмешательства. Остается потребность в фармацевтических композициях для введения пептидов, являющихся агонистами GLP-1/глюкагона.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

- [0009]** MEDI0382 представляет собой синтетический пептид, содержащий 30 аминокислот с жирной кислотой C16 (пальмитиновая кислота). MEDI0382 сочетает коагонистическую активность рецептора как глюкагоноподобного пептида-1 (GLP-1), так и глюкагона. Комбинация активности GLP-1 и глюкагона может вызвать значительную потерю веса и привести к улучшению гликемического контроля и липидных профилей. Чтобы вызвать ответ двойного агониста, определенные аминокислоты были структурированы так, чтобы сделать весь пептид безопасным и эффективным. Такое расположение привело к проблемам со стабильностью состава. Помимо структурных недостатков, добавление консерванта вносит дополнительные ограничения на стабильность раствора. Консерванты были включены для составления MEDI0382 в виде многодозового состава для удобства пациентов. Была проведена обширная разработка состава для определения подходящих условий раствора для поддержания стабильности состава при сохранении безопасности. Выбор pH раствора, силы буфера и консерванта использовался для создания многодозовых составов.
- [0010]** Многодозовые составы MEDI0382 преимущественно допускают две разные презентации лекарственных препаратов, так что пациенты могут начинать лечение с использованием MEDI0382 в дозе 1 мг/мл («титрационная доза») и переключаться на дозу

5 мг/мл («поддерживающая доза»). Использование титрационной дозы перед поддерживающей дозой может уменьшить побочные эффекты.

- [0011]** Фармацевтические композиции, содержащие пептиды, являющиеся агонистами GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), предоставлены в настоящем документе для получения композиций, которые избегают агрегатов более высокого порядка и обеспечивают долгосрочную (например, 2-летнюю) стабильность.
- [0012]** В настоящем документе представлены фармацевтические композиции для введения пептидов, являющихся агонистами GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382).
- [0013]** В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит пептид, содержащий SEQ ID NO:4 (MEDI0382), а pH композиции составляет приблизительно 8,1.
- [0014]** В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит пептид, содержащий SEQ ID NO:4 (MEDI0382), и сорбит.
- [0015]** В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит пептид, содержащий SEQ ID NO:4 (MEDI0382), и мета-крезол.
- [0016]** В определенных вариантах осуществления pH композиции составляет по меньшей мере 7,9. В определенных вариантах осуществления pH композиции составляет от приблизительно 7,9 до приблизительно 8,4. В определенных вариантах осуществления pH композиции составляет приблизительно 8,1.
- [0017]** В определенных вариантах осуществления композиция содержит средство, регулирующее pH. В определенных вариантах осуществления композиция содержит гидроксид натрия. В определенных вариантах осуществления композиция содержит гидроксид натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы pH композиции составлял по меньшей мере 7,9. В определенных вариантах осуществления композиция содержит гидроксид натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы pH композиции составлял по меньшей мере от приблизительно 7,9 до приблизительно 8,4. В определенных вариантах осуществления композиция содержит гидроксид натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы pH композиции составлял приблизительно 8,1.
- [0018]** В определенных вариантах осуществления композиция содержит средство, регулирующее тоничность. В определенных вариантах осуществления средство, регулирующее тоничность, представляет собой сорбит, маннит или пропиленгликоль. В определенных вариантах осуществления композиция содержит сорбит. В определенных

вариантах осуществления концентрация сорбита составляет от приблизительно 190 мМ до приблизительно 250 мМ. В определенных вариантах осуществления концентрация сорбита составляет приблизительно 220 мМ. В определенных вариантах осуществления концентрация сорбита составляет 220,3 мМ. В определенных вариантах осуществления концентрация сорбита составляет от приблизительно 35 мг/мл до приблизительно 45 мг/мл. В определенных вариантах осуществления концентрация сорбита составляет от приблизительно 40 мг/мл до приблизительно 41 мг/мл. В определенных вариантах осуществления концентрация сорбита составляет 40,13 мг/мл.

[0019] В определенных вариантах осуществления композиция содержит противомикробное средство. В определенных вариантах осуществления противомикробное средство представляет собой мета-крезол или фенол. В определенных вариантах осуществления композиция содержит мета-крезол. В определенных вариантах осуществления концентрация мета-крезола составляет от приблизительно 0,27% вес/об. до приблизительно 0,45% вес/об. В определенных вариантах осуществления концентрация мета-крезола составляет приблизительно 0,31% вес/об. В определенных вариантах осуществления концентрация мета-крезола составляет от приблизительно 25 мМ до приблизительно 30 мМ. В определенных вариантах осуществления концентрация мета-крезола составляет приблизительно 28,6 мМ. В определенных вариантах осуществления концентрация мета-крезола составляет приблизительно 0,4% вес/об. В определенных вариантах осуществления концентрация мета-крезола составляет от приблизительно 2,7 мг/мл до приблизительно 4,5 мг/мл. В определенных вариантах осуществления концентрация мета-крезола составляет приблизительно 3,1 мг/мл. В определенных вариантах осуществления концентрация мета-крезола составляет приблизительно 4 мг/мл.

[0020] В определенных вариантах осуществления композиция содержит буфер. В определенных вариантах осуществления буфер представляет собой фосфат натрия или TRIS.

[0021] В определенных вариантах осуществления композиция содержит фосфат натрия. В определенных вариантах осуществления концентрация фосфата натрия составляет от приблизительно 5 мМ до приблизительно 25 мМ.

[0022] В определенных вариантах осуществления концентрация фосфата натрия составляет приблизительно 20 мМ. В определенных вариантах осуществления

концентрация фосфата натрия составляет 20 мМ. В определенных вариантах осуществления концентрация фосфата натрия составляет 20,1 мМ. В определенных вариантах осуществления фосфат натрия содержит одноосновный моногидрат фосфата натрия и двухосновный гептагидрат фосфата натрия. В определенных вариантах осуществления концентрация одноосновного моногидрата фосфата натрия составляет приблизительно 1 мМ и концентрация двухосновного гептагидрата фосфата натрия составляет приблизительно 19 мМ. В определенных вариантах осуществления концентрация одноосновного моногидрата фосфата натрия составляет 1 мМ и концентрация двухосновного гептагидрата фосфата натрия составляет 19 мМ. В определенных вариантах осуществления концентрация одноосновного моногидрата фосфата натрия составляет 1 мМ и концентрация двухосновного гептагидрата фосфата натрия составляет 19,1 мМ.

[0023] В определенных вариантах осуществления концентрация фосфата натрия составляет приблизительно 10 мМ. В определенных вариантах осуществления фосфат натрия представляет собой двухосновный гептагидрат фосфата натрия.

[0024] В определенных вариантах осуществления концентрация фосфата натрия составляет от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 10 мг/мл. В определенных вариантах осуществления концентрация фосфата натрия составляет приблизительно 5,25 мг/мл. В определенных вариантах осуществления фосфат натрия содержит одноосновный моногидрат фосфата натрия и двухосновный гептагидрат фосфата натрия. В определенных вариантах осуществления концентрация одноосновного моногидрата фосфата натрия составляет приблизительно 0,13 мг/мл, и концентрация двухосновного гептагидрата фосфата натрия составляет приблизительно 5,12 мг/мл. В определенных вариантах осуществления концентрация фосфата натрия составляет приблизительно 2,68 мг/мл. В определенных вариантах осуществления фосфат натрия представляет собой двухосновный гептагидрат фосфата натрия.

[0025] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция не содержит фосфат натрия. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция не содержит лизин, трегалозу, сахарозу, хлорид магния, гистидин, аргинин и/или глутаминовую кислоту.

[0026] В определенных вариантах осуществления концентрация пептида, содержащего SEQ ID NO:4 (MEDI0382), составляет от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 5

мг/мл. В определенных вариантах осуществления концентрация пептида, содержащего SEQ ID NO:4 (MEDI0382), составляет приблизительно 1 мг/мл. В определенных вариантах осуществления концентрация пептида, содержащего SEQ ID NO:4 (MEDI0382), составляет приблизительно 2 мг/мл. В определенных вариантах осуществления концентрация пептида, содержащего SEQ ID NO:4 (MEDI0382), составляет приблизительно 5 мг/мл.

[0027] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл пептида, содержащего SEQ ID NO:4 (MEDI0382), сорбит в концентрации от приблизительно 190 мМ до приблизительно 250 мМ, фосфат натрия в концентрации от приблизительно 5 мМ до приблизительно 25 мМ и от приблизительно 0,27% вес/об. до приблизительно 0,45% вес/об. мета-крезола, а pH фармацевтической композиции составляет от приблизительно 7,9 до приблизительно 8,4.

[0028] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл (например, приблизительно 1 мг/мл, приблизительно 2 мг/мл или приблизительно 5 мг/мл) пептида, содержащего SEQ ID NO:4 (MEDI0382), сорбит в концентрации приблизительно 220,3 мМ, фосфат натрия в концентрации приблизительно 20,1 мМ и приблизительно 0,31% вес/об. мета-крезола, а pH фармацевтической композиции составляет приблизительно 8,1. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл (например, приблизительно 1 мг/мл, приблизительно 2 мг/мл или приблизительно 5 мг/мл) пептида, содержащего SEQ ID NO:4 (MEDI0382), сорбит в концентрации приблизительно 220,3 мМ, фосфат натрия в концентрации приблизительно 20 мМ и приблизительно 0,31% вес/об. мета-крезола, а pH фармацевтической композиции составляет приблизительно 8,1. В определенных вариантах осуществления фосфат натрия содержит одноосновный моногидрат фосфата натрия и двухосновный гептагидрат фосфата натрия.

[0029] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл (например, приблизительно 1 мг/мл, приблизительно 2 мг/мл или приблизительно 5 мг/мл) пептида, содержащего SEQ ID NO:4 (MEDI0382), сорбит в концентрации приблизительно 220,3 мМ, фосфат натрия в концентрации приблизительно 10 мМ и приблизительно 0,31%

вес/об. мета-крезола, а pH фармацевтической композиции составляет приблизительно 8,1. В определенных вариантах осуществления фосфат натрия представляет собой двухосновный гептагидрат фосфата натрия.

[0030] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от 0,5 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл (например, приблизительно 1 мг/мл, приблизительно 2 мг/мл или приблизительно 5 мг/мл) пептида, содержащего SEQ ID NO:4 (MEDI0382), сорбит в концентрации приблизительно 220 мМ, фосфат натрия в концентрации приблизительно 20 мМ и приблизительно 0,31% вес/об. мета-крезола, а pH фармацевтической композиции составляет приблизительно 8,1. В определенных вариантах осуществления фосфат натрия содержит одноосновный моногидрат фосфата натрия и двухосновный гептагидрат фосфата натрия.

[0031] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл (например, приблизительно 1 мг/мл, приблизительно 2 мг/мл или приблизительно 5 мг/мл) пептида, содержащего SEQ ID NO:4 (MEDI0382), сорбит в концентрации приблизительно 220 мМ, фосфат натрия в концентрации приблизительно 20 мМ и приблизительно 0,4% вес/об. мета-крезола, а pH фармацевтической композиции составляет приблизительно 8,1.

[0032] В определенных вариантах осуществления композиция содержит гидроксид натрия. В определенных вариантах осуществления фосфат натрия содержит одноосновный моногидрат фосфата натрия и двухосновный гептагидрат фосфата натрия. В определенных вариантах осуществления отношение одноосновного моногидрата фосфата натрия к двухосновному гептагидрату фосфата натрия составляет приблизительно 0,5:19,5.

[0033] В определенных вариантах осуществления композиция содержит от приблизительно 0,05 мг до приблизительно 0,5 мг пептида, содержащего SEQ ID NO:4 (MEDI0382). В определенных вариантах осуществления композиция содержит приблизительно 0,3 мг пептида под SEQ ID NO:4 (MEDI0382).

[0034] В определенных вариантах осуществления композиция представляет собой жидкость. В определенных вариантах осуществления композиция предназначена для парентерального введения. В определенных вариантах осуществления композиция предназначена для подкожного введения.

- [0035]** В определенных вариантах осуществления флакон, шприц или шприц-ручка содержат фармацевтическую композицию, представленную в данном документе. В определенных вариантах осуществления флакон, шприц или шприц-ручка представляет собой многодозовый флакон, шприц или шприц-ручку.
- [0036]** В определенных вариантах осуществления способ снижения массы тела включает введение субъекту-человеку, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции, представленной в данном документе.
- [0037]** В определенных вариантах осуществления способ снижения содержания жира в организме включает введение субъекту-человеку, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции, представленной в данном документе.
- [0038]** В определенных вариантах осуществления способ лечения ожирения включает введение субъекту-человеку, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции, представленной в данном документе.
- [0039]** В определенных вариантах осуществления способ лечения или профилактики заболевания или состояния, вызванного или характеризующегося избыточной массой тела, включает введение субъекту-человеку, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции, представленной в данном документе.
- [0040]** В определенных вариантах осуществления способ лечения неалкогольного стеатогепатита (NASH) включает введение субъекту-человеку, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции, представленной в данном документе. В определенных вариантах осуществления способ лечения неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD) включает введение субъекту-человеку, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции, представленной в данном документе.
- [0041]** В определенных вариантах осуществления способ уменьшения жира в печени включает введение субъекту-человеку, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции, представленной в данном документе.
- [0042]** В определенных вариантах осуществления способ увеличения окисления липидов включает введение субъекту-человеку, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции, представленной в данном документе.
- [0043]** В определенных вариантах осуществления способ сокращения потребления пищи включает введение субъекту-человеку, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции, представленной в данном документе.

- [0044] В определенных вариантах осуществления способ снижения уровня глюкозы в плазме крови включает введение субъекту-человеку, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции, представленной в данном документе.
- [0045] В определенных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, субъект страдает диабетом. В определенных вариантах осуществления диабет является сахарным диабетом 2 типа.
- [0046] В определенных вариантах осуществления способ лечения сахарного диабета 2 типа включает введение человеку, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции, представленной в данном документе.
- [0047] В определенных вариантах осуществления способ улучшения гликемического контроля у субъекта-человека с сахарным диабетом 2 типа включает введение субъекту, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции, представленной в данном документе.
- [0048] В определенных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, введение снижает массу тела В определенных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, введение лечит ожирение В определенных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, введение снижает содержание жира в организме.
- [0049] В определенных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, вводят от приблизительно 0,05 мг до приблизительно 0,3 мг пептида. В определенных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, вводят приблизительно 0,05 мг, приблизительно 0,1 мг, приблизительно 0,15 мг, приблизительно 0,2 мг, приблизительно 0,25 мг или приблизительно 0,3 мг пептида.
- [0050] В определенных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, пептид вводят ежедневно. В определенных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, пептид вводят один раз в день. В определенных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, пептид вводят в течение по меньшей мере одной недели, по меньшей мере двух недель, по меньшей мере трех недель или по меньшей мере четырех недель.
- [0051] В определенных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, пептид вводят путем инъекции. В определенных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, введение является подкожным.

- [0052]** В определенных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, субъект имеет индекс массы тела (ВМТ), составляющий от 27 до 40 кг/м². В определенных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, субъект имеет ВМТ, составляющий 30-39,9 кг/м². В определенных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, субъект имеет ВМТ, составляющий по меньшей мере 40 кг/м². В определенных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, у субъекта есть избыточный вес. В определенных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, у субъекта ожирение.
- [0053]** В определенных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, введение является дополнением к режиму питания и физической нагрузке.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

- [0001]** На фиг. 1 показана химическая структура, химическая формула (C₁₆₇H₂₅₂N₄₂O₅₅) и молекулярная масса (3728,09) MEDI0382 (SEQ ID NO:4).
- [0002]** На фиг. 2 показаны результаты анализа связывания тиофлавина Т (ThT) в присутствии аминокислот, цитрата и хлорида магния. (См. пример 11).
- [0003]** На фиг. 3 показаны результаты анализа ThT в присутствии трегалозы, пропиленгликоля, сорбита, сахарозы, маннита, лизина и цитрата натрия. (См. пример 11).
- [0004]** На фиг. 4 показаны уровни чистоты различных композиций на основе MEDI0382, хранящихся при 40°C. (См. пример 11).
- [0005]** На фиг. 5 показано влияние м-крезола и фенола на чистоту и фибрилляцию MEDI0382. (См. пример 13).
- [0006]** На фиг. 6 показаны гидродинамический радиус (R (h)) и фибрилляция (время задержки) в диапазонах рН, фенола, глицерина и сорбита. (См. пример 13).
- [0007]** На фиг. 7 показана чистота MEDI0382 в семи различных композициях на протяжении 6 месяцев при 25°C. (См. пример 14).
- [0008]** На фиг. 8 показана оценка прогнозирующего профилировщика влияния компонентов в семи различных композициях MEDI0382 в отношении общей чистоты

- (DS), примеси (окисление, изомер 15 и изомер 9) и общее количество примесей. (См. пример 14).
- [0009] На фиг. 9 показано влияние жидкого фенола на химическую стабильность 1 мг/мл MEDI0382 на протяжении 12 недель при 5°C и 25°C. (См. пример 17).
- [0010] На фиг. 10 показано влияние твердого фенола на химическую стабильность 1 мг/мл MEDI0382 на протяжении 12 недель при 5°C и 25°C. (См. пример 17).
- [0011] На фиг. 11 показано влияние твердого фенола на химическую стабильность 2 мг/мл MEDI0382 на протяжении 12 недель при 5°C и 25°C. (См. пример 17).
- [0012] На фиг. 12 показано влияние м-крезола (Sigma) на химическую стабильность 1 мг/мл MEDI0382 на протяжении 12 недель при 5°C и 25°C. (См. пример 17).
- [0013] На фиг. 13 показано влияние м-крезола (Hedinger) на химическую стабильность 1 мг/мл MEDI0382 на протяжении 12 недель при 5°C и 25°C. (См. пример 17).
- [0014] На фиг. 14A, 14B и 14C показано влияние концентрации фосфата натрия и типа соли на образование высокомолекулярных (HWM) примесей MEDI0382. (См. пример 19).
- [0015] На фиг. 15 показано влияние типа буфера на уровни примесей HMW при 40°C (результаты SEC). (См. пример 19).
- [0016] На фиг. 16A показано, что 5 мг/мл составов на основе MEDI0382 имеют более низкие уровни общих примесей, чем 1 или 2 мг/мл составов. (См. пример 20).
- [0017] На фиг. 16B показаны высокомолекулярные (HMW) примеси в 5 мг/мл и 1 мг/мл составов на основе MEDI0382 при 40°C, 25°C и 5°C. (См. пример 20).
- [0018] На фиг. 17 показано, что в составах на основе MEDI0382 с концентрацией 1, 2 или 5 мг/мл не было обнаружено значительных положительных по фибрилляции частиц, идентифицированных с помощью FACS. (См. пример 20).
- [0019] На фиг. 18 показаны ТЕМ-изображения фибрилл в 1 и 5 мг/мл составов MEDI0382. (См. пример 20).
- [0020] На фиг. 19 показано общее количество примесей в 5 мг/мл и 1 мг/мл составов на основе MEDI0382 при 40°C, 25°C и 5°C. (См. пример 21).
- [0021] На фиг. 20 показаны высокомолекулярные (HMW) примеси в 5 мг/мл и 1 мг/мл составов на основе MEDI0382 при 40°C, 25°C и 5°C. (См. пример 21).
- [0022] На фиг. 21 показаны положительные частицы ThaT при 5°C, как это наблюдалось с помощью FACS. (См. пример 21).

- [0023] На фиг. 22 показаны ТЕМ-изображения фибрилл в 1 и 5 мг/мл составов на основе MEDI0382. (См. пример 21).
- [0024] На фиг. 23 показаны результаты исследований стабильности при 25°C (слева), 32°C (в центре) и 40°C (справа) в отношении MEDI0382, составленного с использованием замещения кислорода. DO = растворенный кислород. Линии модели относятся к модели Аррениуса, разработанной на основе данных исследования стабильности с использованием MEDI0382, составленного в нормальных атмосферных условиях. (См. пример 23).
- [0025] На фиг. 24 показано сравнение данных стабильности, полученных с использованием MEDI0382, составленного в 5% растворенном кислороде (DO) и 20% DO, с моделью Аррениуса MEDI0382, составленной в нормальных атмосферных условиях. (См. пример 23).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

- [0026] Следует понимать, что конкретные варианты реализации, показанные и описанные в данном документе, являются примерами, и не предполагается, что они в иных обстоятельствах каким-либо образом ограничивают объем применения.
- [0027] Опубликованные патенты, заявки на патенты, веб-сайты, названия компаний и научная литература, упоминаемые в данном документе, настоящим включены посредством ссылки во всей своей полноте в той же степени, как если бы было указано, что каждый из них был конкретно и отдельно включен посредством ссылки. Любое противоречие между какими-либо источниками, цитируемыми в данном документе, и конкретными идеями настоящего описания будет разрешаться в пользу последнего. Подобным образом, любое противоречие между понимаемым в данной области техники определением слова или фразы и определением слова или фразы, которое отдельно приведено в данном описании, будет разрешаться в пользу последнего.

I. Определения

- [0028] Используемые в данном описании формы единственного числа, в частности, охватывают также формы множественного числа для терминов, к которым они относятся, если содержание явно не указывает иное. В связи с этим формы

единственного числа, термины "один или несколько" и "по меньшей мере один" могут использоваться в данном документе взаимозаменяемо.

[0029] Используемый в данном документе термин "приблизительно" означает примерно, в диапазоне, ориентировочно или около. Если термин "приблизительно" используется совместно с числовым диапазоном, то он модифицирует данный диапазон, расширяя границы выше и ниже изложенных числовых значений. В целом, если не указано иное, термин "приблизительно" используется в данном документе для модификации числового значения в большую и меньшую сторону от приведенного значения с отклонением на 20%.

[0030] Кроме того, термин "и/или", в случаях, когда он используется в данном документе, следует рассматривать как конкретное раскрытие каждого из двух указанных признаков или компонентов с другим или без другого. Таким образом, подразумевается, что термин "и/или", используемый в данном документе в такой фразе, как "А и/или В", включает "А и В", "А или В", "А" (отдельно) и "В" (отдельно). Аналогично подразумевается, что термин "и/или", используемый в такой фразе, как "А, В и/или С", охватывает каждый из следующих аспектов: А, В и С; А, В или С; А или С; А или В; В или С; А и С; А и В; В и С; А (отдельно); В (отдельно) и С (отдельно).

[0031] Следует понимать, что какие бы аспекты ни описывались в данном документе формулировкой "содержащий", другие аналогичные аспекты, описываемые терминами "состоящий из" и/или "состоящий по сути из", также предусмотрены. Пептид, "содержащий" конкретную аминокислотную последовательность, относится к пептиду, содержащему аминокислотную последовательность, где пептид может содержать дополнительные аминокислоты или другие модификации аминокислотной последовательности или не содержать их. Пептид, "состоящий из" конкретной аминокислотной последовательности, относится к пептиду, содержащему только данную аминокислотную последовательность, а не дополнительные аминокислоты или другие модификации аминокислотной последовательности. Пептид, "содержащий" аминокислотную последовательность, "состоящую из" конкретной аминокислотной последовательности, относится к пептиду, содержащему аминокислотную последовательность, а не дополнительные аминокислоты; однако

пептид может содержать другие модификации аминокислотной последовательности (например, ацильный фрагмент или пальмитоильный фрагмент).

[0032] Если не определено иное, то используемые в данном документе технические и научные термины имеют значение, обычно понимаемое специалистом в области техники, к которой относится настоящая заявка. В данном документе приведены ссылки на различные методики и материалы, известные специалистам в данной области техники. Стандартные справочные издания, в которых изложены общие принципы синтеза пептидов, включают W. C. Chan and P. D. White, "Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach", Oxford University Press, Oxford (2004). Кроме того, в Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; и Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press, для специалиста предоставляется общий словарь со многими из терминов, используемых в настоящем изобретении.

[0033] Единицы измерения, приставки и символы указаны в их форме, принятой согласно Международной системе единиц (SI). Числовые диапазоны включают числа, определяющие диапазон. Если не указано иное, то аминокислотные последовательности записаны слева направо в направлении от amino- к карбокси-концу. Приведенные в данном документе заголовки не ограничивают различные аспекты настоящего изобретения, которые могут обеспечиваться ссылкой на описание в целом. Соответственно, термины, определяемые непосредственно ниже, более полно определены посредством ссылки на описание во всей его полноте.

[0034] Термины "пептид", "полипептид", "белок" и "фрагмент белка" используются в данном документе взаимозаменяемо по отношению к полимеру из двух или более аминокислотных остатков. Термины применимы к полимерам из аминокислот, в которых один или несколько аминокислотных остатков представляют собой искусственный химический миметик соответствующей встречающейся в природе аминокислоты, а также к полимерам из встречающихся в природе аминокислот и к полимерам из не встречающихся в природе аминокислот. Термин "пептид" дополнительно включает пептиды, которые были подвергнуты посттрансляционным или постсинтетическим модификациям, например, гликозилированию,

ацетилированию, фосфорилированию, амидированию, дериватизации с помощью известных защитных/блокирующих групп, протеолитическому расщеплению или модификации с помощью не встречающихся в природе аминокислот. "Пептид" может представлять собой часть слитого пептида, содержащего дополнительные компоненты, такие как, например, Fc-домен или домен альбумина, для повышения периода полувыведения. Пептид, описанный в данном документе, также может быть дериватизирован с помощью ряда различных способов.

[0035] Термин "аминокислота" относится к встречающимся в природе и синтетическим аминокислотам, а также к аналогам аминокислот и миметикам аминокислот, которые выполняют функцию, аналогичную таковой у встречающихся в природе аминокислот. Встречающиеся в природе аминокислоты представляют собой аминокислоты, кодируемые генетическим кодом, а также те аминокислоты, которые затем модифицируются, например, гидроксипролин, гамма-карбоксиглутамат и O-фосфосерин. Аналоги аминокислот относятся к соединениям, которые характеризуются такой же основной химической структурой, как у встречающейся в природе аминокислоты, например, альфа-углерод, который связан с водородом, карбоксильной группой, аминогруппой и R-группой, например, гомосерин, норлейцин, метионинсульфоксид, метионинметилсульфоний. Такие аналоги могут содержать модифицированные R-группы (например норлейцин) или модифицированные пептидные остовы, но сохранять такую же основную химическую структуру, как у встречающейся в природе аминокислоты. Миметики аминокислот относятся к химическим соединениям, которые характеризуются структурой, отличающейся от общей химической структуры аминокислоты, но которые функционируют так же, как и встречающаяся в природе аминокислота. Термины "аминокислота" и "аминокислотный остаток" используются в данном документе взаимозаменяемо.

[0036] Термин "выделенный" относится к состоянию, в котором пептиды или нуклеиновые кислоты будут в целом соответствовать настоящему изобретению. Выделенные пептиды и выделенные нуклеиновые кислоты не будут содержать или фактически не будут содержать материал, с которым они связаны в природных

условиях, как, например, другие пептиды или нуклеиновые кислоты, с которыми они встречаются в их природном окружении или среде, в которой их получают (например, клеточной культуре), если такое получение осуществляют с помощью технологии рекомбинантной ДНК, осуществляемой на практике *in vitro* или *in vivo*. Пептиды и нуклеиновую кислоту можно составлять с разбавителями или вспомогательными веществами и оставлять выделенными для практических целей – например, пептиды, как правило, будут смешивать с желатином или другими носителями, в случае применения для покрытия микротитрационных планшетов для применения в иммунологических анализах, или будут смешивать с фармацевтически приемлемыми носителями или разбавителями при применении в диагностике или терапии.

[0037] "Рекомбинантный" пептид относится к пептиду, полученному посредством технологии рекомбинантной ДНК. Полученные рекомбинантным путем пептиды, экспрессируемые в клетках-хозяевах, считаются выделенными для целей настоящего изобретения, поскольку представляют собой нативные или рекомбинантные полипептиды, которые были отделены, фракционированы или частично или в значительной степени очищены с помощью любой подходящей методики.

[0038] Термины "фрагмент", "аналог", "производное" или "вариант" в контексте пептида, являющегося агонистом GLP-1/глюкагона, подразумевают любой пептид, у которого сохраняется по меньшей мере некоторая необходимая активность, например, связывание с рецепторами глюкагона и/или GLP-1. Предусмотренные в данном документе фрагменты пептидов, являющихся агонистами GLP-1/глюкагона, включают фрагменты, подвергнутые протеолитическому расщеплению, фрагменты, подвергнутые делеции, которые характеризуются необходимыми свойствами в ходе экспрессии, очистки и/или введения субъекту.

[0039] Термин "вариант", используемый в данном документе, относится к пептиду, который отличается от упомянутого пептида вследствие аминокислотных замен, делеций, вставок и/или модификаций. Варианты можно получать с применением известных из уровня техники методик мутагенеза. Варианты могут также или в качестве альтернативы содержать другие модификации – например, пептид можно конъюгировать или связывать, например, сливать с гетерологичной аминокислотной последовательностью или другим фрагментом, например, для повышения периода полувыведения, растворимости или

стабильности. Примеры фрагментов, подлежащих конъюгации или связыванию с пептидом, предусмотренным в данном документе, включают без ограничения альбумин, Fc-область иммуноглобулина, полиэтиленгликоль (PEG) и т. п. Пептид может быть также конъюгирован или получен в виде связанного с линкером или другой последовательностью для облегчения синтеза, очистки или идентификации пептида (например, 6-His) или для усиления связывания полипептида с твердой подложкой.

- [0040]** Термины "композиция" или "фармацевтическая композиция" относятся к композициям, содержащим предусмотренный в данном документе пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона, вместе, например, с фармацевтически приемлемыми носителями, наполнителями или разбавителями, для введения субъекту, нуждающемуся в лечении, например, субъекту-человеку, подлежащему лечению от ожирения.
- [0041]** Термин "фармацевтически приемлемый" относится к композициям, которые по результатам тщательной медицинской оценки являются подходящими для контакта с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности или других осложнений в соответствии с разумным соотношением польза/риск.
- [0042]** Термин "фармацевтически приемлемый носитель" относится к одному или нескольким нетоксичным материалам, которые не препятствуют эффективности биологической активности пептидов, являющихся агонистами GLP-1/глюкагона.
- [0043]** "Эффективное количество" представляет собой такое количество предусмотренного в данном документе пептида, являющегося агонистом GLP-1/глюкагона, введение которого субъекту, либо в однократной дозе, либо в виде части серии доз, является эффективным для лечения, например, лечения ожирения. Количество является эффективным, например, если его введение приводит в результате к одному или нескольким из потери веса или поддержания веса (например, предотвращения набора веса), снижения содержания жира в организме, предупреждения или модуляции гипогликемии, предупреждения или модуляции гипергликемии, стимуляции синтеза инсулина или сокращения потребления пищи. Данное количество может представлять собой фиксированную дозу для всех субъектов, подлежащих лечению, или может меняться в зависимости от веса, состояния здоровья и физического состояния субъекта, подлежащего лечению, необходимой степени потери веса или поддержания веса, состава пептида, профессиональной оценки медицинского случая и других значимых факторов.

- [0044]** Термин "субъект" означает любого субъекта, в частности субъекта-млекопитающего, нуждающегося в лечении с помощью предусмотренного в данном документе пептида, являющегося агонистом GLP-1/глюкагона. Субъекты-млекопитающие включают без ограничения людей, собак, кошек, морских свинок, кроликов, крыс, мышей, лошадей, крупный рогатый скот, медведей, коров, человекообразных обезьян, обезьян, орангутанов и шимпанзе и т. д. В одном варианте осуществления субъектом является субъект-человек.
- [0045]** Используемый в данном документе термин "субъект, нуждающийся в этом" относится к индивидууму, для которого целесообразным является лечение, например, к субъекту, страдающему ожирением, или субъекту, склонному к ожирению, для которого целесообразным является содействие потере веса или снижению содержания жира в организме, поддержание веса или содержания жира в организме или предупреждение или сведение к минимуму набора веса в течение определенного периода времени.
- [0046]** Такие термины, как "осуществление лечения", или "лечение", или "лечить", относятся к терапевтическим мерам, с помощью которых излечивают диагностированное патологическое состояние или нарушение и/или останавливают его прогрессирование. Такие термины, как "предупреждение", относятся к профилактическим или предупредительным мерам, с помощью которых предупреждают и/или замедляют развитие целевого патологического состояния или нарушения. Таким образом, нуждающиеся в лечении включают тех, у кого уже имеется заболевание или состояние. Нуждающиеся в предупреждении включают тех, кто склонен к развитию заболевания или состояния, и тех, у кого необходимо предупредить заболевание или состояние. Например, фраза "лечение пациента", у которого имеется заболевание или состояние, вызванное или характеризующееся избыточным весом тела, относится к снижению тяжести заболевания или состояния до такой степени, что субъект больше не страдает от дискомфорта и/или вызванной им измененной функции. Фраза "предупреждение" заболевания или состояния, вызванного или характеризующееся избыточным весом тела, относится к снижению вероятности возникновения заболевания или состояния и/или снижению частоты возникновения заболевания или состояния (например, относительно снижению частоты возникновения по сравнению с пациентами, не получавшими лечение).
- [0047]** Такие термины, как "снижение тяжести", относятся к терапевтическим мерам, с помощью которых замедляют или ослабляют симптомы диагностированного

патологического состояния или нарушения. Например, фраза "снижение тяжести" заболевания или состояния, вызванного или характеризующегося избыточным весом тела, относится к снижению тяжести заболевания или состояния (например, снижению веса по сравнению с пациентами, не получавшими лечение, или повышению контроля уровня глюкозы).

[0048] Как используется в данном документе, "пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона" представляет собой химерный пептид, который характеризуется активностью в отношении рецептора глюкагона, составляющей по меньшей мере приблизительно 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или более по сравнению с нативным глюкагоном, и также характеризуется активностью в отношении рецептора GLP-1, составляющей по меньшей мере приблизительно 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или более по сравнению с нативным GLP-1, в условиях анализа 1.

[0049] Используемый в данном документе термин "нативный глюкагон" относится к встречающемуся в природе глюкагону, например глюкагону человека, содержащему последовательность HSQGTFTSDYSKYLDSRRAQDFVQW LMNT (SEQ ID NO: 1). Термин "нативный GLP-1" относится к встречающемуся в природе GLP-1, например, GLP-1 человека, и представляет собой общий термин, который охватывает, например, амид GLP-1(7-36) (HAEGT FTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLKGR; SEQ ID NO: 2), кислоту GLP-1(7-37) (HAEGT FTSDVSSYLEGQAAKEFIAWLKGRG; SEQ ID NO: 3) или смесь этих двух соединений. Подразумевается, что используемая в данном документе общая ссылка на "глюкагон" или "GLP-1" в отсутствие любого дополнительного обозначения означает соответственно нативный глюкагон человека или нативный GLP-1 человека. Если не указано иное, "глюкагон" относится к глюкагону человека, и "GLP-1" относится к GLP-1 человека.

II. Пептиды, являющиеся агонистами GLP-1/глюкагона

[0050] В данном документе предусмотрены пептиды, которые связываются как с рецептором глюкагона, так и с рецептором GLP-1. Иллюстративные пептиды, такие как MEDI0382 (G933; котадутид) представлены в WO 2014/091316 и WO 2017/153575, каждый из которых включен в данный документ посредством ссылки во всей своей

полноте. В определенных вариантах осуществления пептид представляет собой MEDI0382, то есть, линейный пептид из 30 аминокислот с последовательностью HSQGTFTSDX₁₀SEYLDSEARDFVAWLEAGG-кислота, где X₁₀ = лизин с пальмитоиловой группой, конъюгированной с эpsilon-атомом азота посредством линкера гамма-глутаминовой кислоты (т. е. K(gE-palm)) (SEQ ID NO:4). В определенных вариантах осуществления пептиды, предусмотренные в данном документе, являются коагонистами активности глюкагона и GLP-1. Такие пептиды обозначаются в данном документе как пептиды, являющиеся агонистами GLP-1/глюкагона. Предусмотренные в данном документе пептиды, являющиеся агонистами GLP-1/глюкагона, характеризуются активностями GLP-1 и глюкагона в оптимальных соотношениях для содействия потере веса, предупреждению набора веса или поддержанию необходимого веса тела, а также характеризуются оптимальной растворимостью, способностью составления и стабильностью. В определенных вариантах осуществления пептиды, являющиеся агонистами GLP-1/глюкагона, как предусмотрено в данном документе, являются активными в отношении рецепторов GLP1 человека и глюкагона человека. В определенных вариантах осуществления раскрытые пептиды, являющиеся агонистами GLP-1/глюкагона, характеризуются необходимыми специфическими активностями в отношении рецепторов глюкагона и GLP-1 и характеризуются необходимыми относительными специфическими активностями для содействия потере веса.

[0051] MEDI0382 имеет остаток глутамата в положении 12 и сохраняет устойчивую активность в отношении рецепторов как глюкагона, так и GLP-1. Соответствующий остаток в эксендине-4 (эксенатид) и глюкагоне представляет собой лизин, а в GLP-1 – серин. Хотя считается, что данный остаток не контактирует с рецептором, изменение заряда с положительного на отрицательный может модифицировать смежное окружение. Кроме того, MEDI0382 имеет остаток глутамата в положении 27. Остаток 27 представляет собой лизин в эксендине-4, и представляет собой незаряженный гидрофобный остаток в GLP1 (валин) и глюкагоне (метионин). Лизин в эксендине-4 способствует электростатическим взаимодействиям с рецептором GLP1 в положениях, соответствующих остаткам Glu127 и Glu24 (C.R.Underwood *et al J Biol Chem* 285 723-730 (2010); S.Runge *et al J Biol Chem* 283 11340-11347 (2008)). Несмотря на то, что можно ожидать потерю активности GLP1R в случае, когда

заряд в положении 27 изменяется на отрицательный, данное изменение является совместимым с активностью MEDI0382 в отношении GLP1R.

[0052] MEDI0382 пальмитоилирован для повышения периода полувыведения за счет связи с сывороточным альбумином, что снижает его склонность к почечному клиренсу.

[0053] В качестве альтернативы или в дополнение раскрытый в данном документе пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона, может быть связан с гетерологичным фрагментом, например, для продления периода полувыведения. Гетерологичный фрагмент может представлять собой белок, пептид, домен белка, линкер, органический полимер, неорганический полимер, полиэтиленгликоль (PEG), биотин, альбумин, сывороточный альбумин человека (HSA), участок, отвечающий за связывание HSA с FcRn, антитело, домен антитела, фрагмент антитела, одноцепочечное антитело, доменное антитело, альбумин-связывающий домен, фермент, лиганд, рецептор, связывающий пептид, каркасную структуру, отличную от каркасной структуры на основе FnIII, эпитопную метку, рекомбинантный полипептидный полимер, цитокин или комбинацию двух или более таких фрагментов.

III. Способы получения пептидов, являющихся агонистами GLP-1/глюкагона

[0054] В настоящем изобретении предусмотрен способ получения пептида, являющегося агонистом GLP-1/глюкагона. Предусмотренные в данном документе пептиды, являющиеся агонистами GLP-1/глюкагона, можно получить с помощью любого подходящего способа. Например, в определенных вариантах осуществления предусмотренные в данном документе пептиды, являющиеся агонистами GLP-1/глюкагона, химически синтезируют с помощью способов, известных средним специалистам в данной области техники, например, с помощью твердофазного синтеза, как описано Merrifield (1963, *J. Am. Chem. Soc.* 85:2149-2154). Твердофазный синтез пептидов можно осуществлять, например, с помощью автоматических синтезаторов с применением стандартных реагентов, например, как объяснено в примере 1 из WO 2014/091316.

[0055] В качестве альтернативы предусмотренные в данном документе пептиды, являющиеся агонистами GLP-1/глюкагона, можно получить рекомбинантным путем с применением подходящей комбинации вектор/клетка-хозяин, как хорошо известно среднему специалисту в данной области техники. Доступен ряд способов рекомбинантного получения пептидов, являющихся агонистами GLP-1/глюкагона. В целом полинуклеотидную последовательность, кодирующую пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона, вставляют в соответствующее средство экспрессии, например, вектор, который содержит необходимые элементы для транскрипции и трансляции вставленной кодирующей последовательности. Нуклеиновую кислоту, кодирующую пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона, вставляют в вектор в соответствующей рамке считывания. Затем вектором экспрессии трансфицируют подходящую клетку-хозяина, которая будет экспрессировать пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона. Подходящие клетки-хозяева включают без ограничения клетки бактерий, дрожжей или млекопитающих. Ряд коммерчески доступных векторных систем для экспрессии в хозяине можно использовать для экспрессии описанных в данном документе пептидов, являющихся агонистами GLP-1/глюкагона.

IV. Фармацевтические композиции

[0056] Дополнительно предусмотрены композиции, например, фармацевтические композиции, которые содержат эффективное количество предусмотренного в данном документе пептида, являющегося агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), которые составлены для лечения заболеваний обмена веществ, например, ожирения.

[0057] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), представляет собой жидкость. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), составлена для парентерального введения. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая

пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), представляет собой жидкость, составленную для парентерального введения.

[0058] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит по меньшей мере одну фиксированную дозу. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от одной до десяти фиксированных доз. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от одной до шести фиксированных доз (например, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550 и 600 мкг).

[0059] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), имеет срок хранения, составляющий по меньшей мере 12 месяцев в условиях охлаждения (2-8°C). В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), имеет срок хранения, составляющий по меньшей мере 2 года в условиях охлаждения (2-8°C).

[0060] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 0,5 до приблизительно 5 мг/мл пептида, являющегося агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382). В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1 мг/мл пептида, являющегося агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382). В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 2 мг/мл пептида, являющегося агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382). В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 5 мг/мл пептида, являющегося агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382).

[0061] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 0,05 мг до приблизительно 0,5 мг пептида, являющегося

агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382). В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 0,3 мг пептида, являющегося агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382).

[0062] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), характеризуется рН, составляющим по меньшей мере 7,9. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), характеризуется рН от приблизительно 7,9 до приблизительно 8,5. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), характеризуется рН от приблизительно 7,9 до приблизительно 8,4. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), характеризуется рН от приблизительно 7,9 до приблизительно 8,3. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), характеризуется рН от приблизительно 7,9 до приблизительно 8,2. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), характеризуется рН от приблизительно 7,9 до приблизительно 8,1.

[0063] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), характеризуется рН, составляющим по меньшей мере 8. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), характеризуется рН от приблизительно 8 до приблизительно 8,5. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), характеризуется рН от приблизительно 8 до приблизительно 8,4. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), характеризуется рН от приблизительно 8 до приблизительно 8,3. В определенных вариантах осуществления

фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), характеризуется рН от приблизительно 8 до приблизительно 8,2. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), характеризуется рН от приблизительно 8,1 до приблизительно 8,5. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), характеризуется рН от приблизительно 8,1 до приблизительно 8,4. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), характеризуется рН от приблизительно 8,1 до приблизительно 8,3. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), характеризуется рН от приблизительно 8,1 до приблизительно 8,2. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), характеризуется рН, составляющим приблизительно 8,1. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), характеризуется рН, составляющим приблизительно 8,2. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), характеризуется рН, составляющим приблизительно 8,4.

[0064] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит средство, регулирующее рН. В некоторых вариантах осуществления средство, регулирующее рН, представляет собой гидроксид натрия. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит гидроксид натрия.

[0065] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит гидроксид натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы рН композиции

составлял по меньшей мере 7,9. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит гидроксид натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы pH композиции составлял от приблизительно 7,9 до приблизительно 8,5. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит гидроксид натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы pH композиции составлял от приблизительно 7,9 до приблизительно 8,4. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит гидроксид натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы pH композиции составлял от приблизительно 7,9 до приблизительно 8,3. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит гидроксид натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы pH композиции составлял от приблизительно 7,9 до приблизительно 8,2. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит гидроксид натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы pH композиции составлял от приблизительно 7,9 до приблизительно 8,1.

[0066] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит гидроксид натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы pH композиции составлял по меньшей мере 8. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит гидроксид натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы pH композиции составлял от приблизительно 8 до приблизительно 8,5. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит гидроксид натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы pH композиции составлял от приблизительно 8 до приблизительно 8,4. В определенных

вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит гидроксид натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы pH композиции составлял от приблизительно 8 до приблизительно 8,3. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит гидроксид натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы pH композиции составлял от приблизительно 8 до приблизительно 8,2. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит гидроксид натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы pH композиции составлял от приблизительно 8,1 до приблизительно 8,5. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), характеризуется pH с содержанием гидроксида натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы pH композиции составлял от приблизительно 8,1 до приблизительно 8,4. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит гидроксид натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы pH композиции составлял от приблизительно 8,1 до приблизительно 8,3. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит гидроксид натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы pH композиции составлял от приблизительно 8,1 до приблизительно 8,2. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит гидроксид натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы pH композиции составлял приблизительно 8,1.

[0067] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит средство, регулирующее тоничность. В определенных вариантах осуществления

средство, регулирующее тоничность, представляет собой сорбит, маннит или пропиленгликоль.

[0068] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 190 мМ до приблизительно 270 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 190 мМ до приблизительно 250 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 200 мМ до приблизительно 250 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 210 мМ до приблизительно 250 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 220 мМ до приблизительно 250 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 200 мМ до приблизительно 240 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 210 мМ до приблизительно 240 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 220 мМ до приблизительно 240 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 220 мМ до приблизительно 240 мМ.

MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 210 мМ до приблизительно 230 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 220 мМ до приблизительно 230 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 200 мМ до приблизительно 220 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 210 мМ до приблизительно 220 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 215 мМ до приблизительно 225 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 219 мМ до приблизительно 221 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации приблизительно 220 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации 220,1, 220,2, 220,3, 220,4 или 220,5 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации 220,3 мМ.

[0069] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 35 мг/мл до приблизительно 45 мг/мл сорбита. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от

приблизительно 40 мг/мл до приблизительно 41 мг/мл сорбита. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 40 мг/мл до приблизительно 40,5 мг/мл сорбита. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 40,1 мг/мл до приблизительно 40,2 мг/мл сорбита. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит приблизительно 40,13 мг/мл сорбита.

[0070] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит маннит. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 300 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 100 мМ до приблизительно 300 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 150 мМ до приблизительно 300 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит маннит в концентрации приблизительно 50 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит маннит в концентрации приблизительно 100 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит маннит в концентрации приблизительно 150 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся

композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит приблизительно 1,85% (вес/об.) пропиленгликоля. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит приблизительно 2% (вес/об.) пропиленгликоля.

[0072] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит консервант/противомикробное средство. В определенных вариантах осуществления консервант или противомикробное средство представляет собой мета-крезол (м-крезол) или фенол.

[0073] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит мета-крезол (м-крезол). В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 0,2% (вес/об.) до приблизительно 0,5% (вес/об.) м-крезола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит по меньшей мере 0,27% (вес/об.) м-крезола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 0,27% (вес/об.) до приблизительно 0,45% (вес/об.) м-крезола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 0,27% (вес/об.) до приблизительно 0,4% (вес/об.) м-крезола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 0,27% (вес/об.) до приблизительно 0,35% (вес/об.) м-крезола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 0,28% (вес/об.) до приблизительно 0,34% (вес/об.) м-крезола. В

определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 0,29% (вес/об.) до приблизительно 0,33% (вес/об.) м-крезола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 0,3% (вес/об.) до приблизительно 0,32% (вес/об.) м-крезола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит приблизительно 0,31% вес/об. м-крезола.

[0074] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит по меньшей мере 0,34% (вес/об.) м-крезола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 0,34% (вес/об.) до приблизительно 0,45% вес/об. м-крезола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 0,38% (вес/об.) до приблизительно 0,42% вес/об. м-крезола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 0,39% (вес/об.) до приблизительно 0,41% вес/об. м-крезола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит приблизительно 0,4% вес/об. м-крезола.

[0075] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 2,7 мг/мл до приблизительно 4,5 мг/мл м-крезола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 2 мг/мл до приблизительно 4 мг/мл м-крезола. В определенных

вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 3 мг/мл до приблизительно 3,5 мг/мл м-крезола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит приблизительно 3,1 мг/мл м-крезола.

[0076] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 3 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл м-крезола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 3,5 мг/мл до приблизительно 4,5 мг/мл м-крезола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит приблизительно 4 мг/мл м-крезола.

[0077] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит фенол. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 0,05% (вес/объем) до приблизительно 2% (вес/об.) фенола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 0,1% (вес/об.) до приблизительно 2% (вес/об.) фенола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 0,2% (вес/об.) до приблизительно 2% (вес/об.) фенола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 0,3% (вес/об.) до приблизительно 2% (вес/об.) фенола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид,

агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит приблизительно 0,4% (вес/об.) фенола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит приблизительно 0,45% (вес/об.) фенола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит приблизительно 0,5% (вес/об.) фенола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит приблизительно 0,55% (вес/об.) фенола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит приблизительно 0,56% (вес/об.) фенола.

[0079] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит буфер. В определенных вариантах осуществления буфер представляет собой фосфат натрия или TRIS.

[0080] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит фосфат натрия.

[0081] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит фосфат натрия в концентрации до 30 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит фосфат натрия в концентрации от приблизительно 5 мМ до приблизительно 30 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит фосфат натрия в концентрации от приблизительно 10 мМ до приблизительно 30 мМ. В определенных

определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 3 до приблизительно 6 мг/мл фосфата натрия. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 4 до приблизительно 10 мг/мл фосфата натрия. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 4 до приблизительно 8 мг/мл фосфата натрия. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 4 до приблизительно 6 мг/мл фосфата натрия. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 4 до приблизительно 10 мг/мл фосфата натрия. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 4 до приблизительно 8 мг/мл фосфата натрия. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 5 до приблизительно 6 мг/мл фосфата натрия. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит приблизительно 5,25 мг/мл фосфата натрия.

[0083] В определенных вариантах осуществления фосфат натрия содержит одноосновный моногидрат фосфата натрия. В определенных вариантах осуществления фосфат натрия содержит двухосновный гептагидрат фосфата натрия. В определенных вариантах осуществления фосфат натрия содержит одноосновный моногидрат фосфата натрия и двухосновный гептагидрат фосфата натрия. В определенных вариантах осуществления фосфат натрия содержит приблизительно 0,13 мг/мл одноосновного моногидрата фосфата натрия и приблизительно 5,12 мг/мл двухосновного гептагидрата фосфата натрия. В определенных вариантах осуществления отношение одноосновного

моногидрата фосфата натрия к двухосновному гептагидрату фосфата натрия составляет от приблизительно 0,25:19,5 до приблизительно 1:19,5. В определенных вариантах осуществления отношение одноосновного моногидрата фосфата натрия к двухосновному гептагидрату фосфата натрия составляет приблизительно 0,5:19,5.

[0084] В определенных вариантах осуществления фосфат натрия в концентрации 20 мМ содержит одноосновный моногидрат фосфата натрия в концентрации приблизительно 0,5 мМ и двухосновный гептагидрат фосфата натрия в концентрации приблизительно 19,5 мМ. В определенных вариантах осуществления фосфат натрия в концентрации 20 мМ содержит одноосновный моногидрат фосфата натрия в концентрации 1 мМ и двухосновный гептагидрат фосфата натрия в концентрации приблизительно 19 мМ. В определенных вариантах осуществления фосфат натрия в концентрации 20,1 мМ содержит одноосновный моногидрат фосфата натрия в концентрации приблизительно 1 мМ и двухосновный гептагидрат фосфата натрия в концентрации приблизительно 19,1 мМ.

[0085] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит TRIS. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит TRIS в концентрации от приблизительно 25 мМ до приблизительно 150 мМ (например, pH 7,5). В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит TRIS в концентрации от приблизительно 50 мМ до приблизительно 100 мМ (например, pH 7,5). В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит TRIS в концентрации приблизительно 25 мМ (например, pH 7,5). В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит TRIS в концентрации приблизительно 50 мМ (например, pH 7,5). В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит TRIS в концентрации приблизительно 75 мМ (например, pH 7,5). В определенных вариантах осуществления

фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит TRIS в концентрации приблизительно 100 мМ (например, рН 7,5). В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит TRIS в концентрации приблизительно 125 мМ (например, рН 7,5). В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит TRIS в концентрации приблизительно 150 мМ (например, рН 7,5).

[0086] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), не содержит фосфат натрия. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), не содержит буфер.

[0087] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), не содержит лизин. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), не содержит трегалозу. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), не содержит сахарозу. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), не содержит хлорида магния. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), не содержит гистидин. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), не содержит аргинин. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), не содержит глутаминовую кислоту. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-

1/глюкагона (например, MEDI0382), не содержит лизин, трегалозу, сахарозу, хлорид магния, гистидин, аргинин и/или глутаминовую кислоту. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), не содержит аминокислоту.

[0088] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 190 мМ до приблизительно 270 мМ и от приблизительно 0,2% до приблизительно 0,5% м-крезола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 190 мМ до приблизительно 270 мМ и фосфат натрия в концентрации до 30 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит м-крезола от приблизительно 0,2% до приблизительно 0,5% и фосфат натрия в концентрации до 30 мМ. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации от приблизительно 190 мМ до приблизительно 270 мМ, 0,2% до приблизительно 0,5% м-крезола и/или фосфат натрия в концентрации до 30 мМ. В определенных вариантах осуществления pH составляет по меньшей мере 7,9, например, приблизительно 8,1.

[0089] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 35 мг/мл до приблизительно 45 мг/мл сорбита и от приблизительно 2,7 мг/мл до приблизительно 4,5 мг/мл м-крезола. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 35 мг/мл до приблизительно 45 мг/мл сорбита и до 10 мг/мл фосфата натрия. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 2,7 мг/мл до приблизительно 4,5 мг/мл м-крезола и до 10

мг/мл фосфата натрия. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит от приблизительно 35 мг/мл до приблизительно 45 мг/мл сорбита, от приблизительно 2,7 мг/мл до приблизительно 4,5 мг/мл м-крезола и до 10 мг/мл фосфата натрия. В определенных вариантах осуществления pH составляет по меньшей мере 7,9, например, приблизительно 8,1.

[0090] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации приблизительно 220 мМ или приблизительно 220,3 мМ, фосфат натрия в концентрации приблизительно 20 мМ или приблизительно 20,1 мМ (например, смесь одноосновного моногидрата фосфата натрия и двухосновного гептагидрата фосфата натрия) и приблизительно 0,31% вес/об. мета-крезола, а pH составляет приблизительно 8,1. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1 мг/мл пептида, являющегося агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382). В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит гидроксид натрия.

[0091] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации приблизительно 220 мМ или фосфат натрия в концентрации приблизительно 220,3 мМ, приблизительно 10 мМ (например, двухосновный гептагидрат фосфата натрия) и приблизительно 0,31% вес/об. мета-крезола, а pH составляет приблизительно 8,1. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1 мг/мл пептида, являющегося агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382).

[0092] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, содержащая пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), содержит сорбит в концентрации приблизительно 220 мМ или приблизительно 220,3 мМ, фосфат натрия в концентрации приблизительно 20 мМ или приблизительно 20,1 мМ (например, смесь одноосновного моногидрата фосфата натрия и двухосновного

гептагидрата фосфата натрия) и приблизительно 0,4% вес/об. мета-крезола, а pH составляет приблизительно 8,1. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 1 мг/мл пептида, являющегося агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382). В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит гидроксид натрия.

[0093] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предусмотренная в данном документе, содержится в шприц-ручке, например, в шприц-ручке для нескольких доз. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предусмотренная в данном документе, содержится в шприце, например шприце для нескольких доз. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предусмотренная в данном документе, содержится во флаконе, например, стеклянном флаконе. Флакон, например, стеклянный флакон, может быть флаконом для нескольких доз.

[0094] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предусмотренная в данном документе, физически стабильна. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предусмотренная в данном документе, химически стабильна. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предусмотренная в данном документе, физически стабильна и химически стабильна. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предусмотренная в данном документе, не образует агрегатов более высокого порядка. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предусмотренная в данном документе, не демонстрирует повышенного образования фибрилл. В определенных вариантах осуществления *Staphylococcus aureus* не растет в фармацевтической композиции, предусмотренной в данном документе, через 28 дней при комнатной температуре. В определенных вариантах осуществления *Escherichia coli* не растет в фармацевтической композиции, предусмотренной в данном документе, через 28 дней при комнатной температуре. В определенных вариантах осуществления ни *Staphylococcus aureus*, ни *Escherichia coli* не растут в фармацевтической композиции, предусмотренной в данном документе, через 28 дней при комнатной температуре.

V. Способы лечения

[0095] Пептиды, являющиеся агонистами GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382) могут сочетать в себе эффект глюкагона, например, подавление потребления пищи или регуляцию уровней глюкозы, с эффектом GLP-1, например, подавление моторики желудка или стимуляция высвобождения инсулина. Следовательно, они могут оказывать свое действие с ускорением устранения избыточной жировой ткани, индуцированием устойчивой потери веса и улучшением гликемического контроля. Пептиды, являющиеся агонистами GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), могут также оказывать свое действие со снижением факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, таких как высокий уровень холестерина и высокий уровень холестерина LDL или нарушенные соотношения HDL/LDL.

[0096] Настоящее изобретение предусматривает способ лечения ожирения или связанного с ожирением заболевания или нарушения, включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, фармацевтической композиции, предусмотренной в данном документе, содержащей пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382). В определенных случаях введение является дополнением к режиму питания и физической нагрузке. В определенных случаях у субъекта имеется сахарный диабет 2 типа. В определенных случаях субъект имеет индекс массы тела (BMI), составляющий от 30 до 39,9 кг/м². В определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий по меньшей мере 40.

[0097] Настоящее изобретение также предусматривает способ снижения массы тела, включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, фармацевтической композиции, предусмотренной в данном документе, содержащей пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382). В определенных случаях введение является дополнением к режиму питания и физической нагрузке. В определенных случаях у субъекта имеется сахарный диабет 2 типа. В определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий от 27 до 40 кг/м². В определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий от 30 до 39,9 кг/м². В определенных случаях субъект имеет BMI,

составляющий по меньшей мере 40. В определенных случаях у субъекта имеется избыточный вес. В определенных случаях субъект страдает ожирением.

[0098] Настоящее изобретение также предусматривает способ снижения жира в организме, включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, фармацевтической композиции, предусмотренной в данном документе, содержащей пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382). В определенных случаях введение является дополнением к режиму питания и физической нагрузке. В определенных случаях у субъекта имеется сахарный диабет 2 типа. В определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий от 27 до 40 кг/м². В определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий от 30 до 39,9 кг/м². В определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий по меньшей мере 40. В определенных случаях у субъекта имеется избыточный вес. В определенных случаях субъект страдает ожирением. В определенных случаях жир представляет собой жир в печени.

[0099] Настоящее изобретение также предусматривает способ лечения неалкогольного стеатогепатита (NASH), включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, фармацевтической композиции, предусмотренной в данном документе, содержащей пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382). В определенных случаях введение является дополнением к режиму питания и физической нагрузке. Посредством введения может также обеспечиваться снижение веса тела или лечение ожирения. В определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий от 27 до 40 кг/м². В определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий от 30 до 39,9 кг/м². В определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий по меньшей мере 40. В определенных случаях у субъекта имеется избыточный вес. В определенных случаях субъект страдает ожирением.

[0100] Настоящее изобретение также предусматривает способ лечения неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD), включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, фармацевтической композиции, предусмотренной в данном документе, содержащей пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382). В определенных случаях введение является дополнением к режиму питания и физической нагрузке. Посредством введения может также обеспечиваться снижение веса тела или

лечение ожирения. В определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий от 27 до 40 кг/м². В определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий от 30 до 39,9 кг/м². В определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий по меньшей мере 40. В определенных случаях у субъекта имеется избыточный вес. В определенных случаях субъект страдает ожирением.

[0101] Настоящее изобретение также предусматривает способ уменьшения жира в печени, включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, фармацевтической композиции, предусмотренной в данном документе, содержащей пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382). В определенных случаях введение является дополнением к режиму питания и физической нагрузке. Посредством введения может также обеспечиваться снижение веса тела или лечение ожирения. В определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий от 27 до 40 кг/м². В определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий от 30 до 39,9 кг/м². В определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий по меньшей мере 40. В определенных случаях у субъекта имеется избыточный вес. В определенных случаях субъект страдает ожирением.

[0102] Как предусмотрено в данном документе, фармацевтическую композицию, предусмотренную в данном документе, содержащую пептиды, являющиеся агонистами GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), можно вводить для предотвращения увеличения веса, предотвращения набора жира (например, жира в печени), стимулирования потери веса, ускорения потери жира (например, жир печени), уменьшения избыточной массы тела, уменьшения количества жира (например, жира в печени) или лечения ожирения (например, путем контроля аппетита, насыщения, приема пищи, потребления калорий и/или расхода энергии), включая патологическое ожирение. Настоящее изобретение также предусматривает способ лечения или предупреждения заболевания или состояния, вызванного или характеризующегося избыточным весом тела или избыточным содержанием жира в организме, включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, фармацевтической композиции, предусмотренной в данном документе, содержащей пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382). В определенных случаях введение является дополнением к режиму питания и физической нагрузке. Кроме того, фармацевтическую композицию, предусмотренную в данном

документе, содержащую пептиды, являющиеся агонистами GLP-1/глюкагона, (например, MEDI0382) можно применять для лечения других связанных с ожирением нарушений обмена веществ. Примеры других связанных с ожирением (связанных с избыточным весом тела) нарушений включают без ограничения инсулинорезистентность, нарушение толерантности к глюкозе, преддиабет, повышенный уровень глюкозы натощак, диабет 2 типа, гипертензию, дислипидемию (или комбинацию этих факторов риска, связанных с метаболизмом), типы глюкагономы, сердечно-сосудистые заболевания, такие как застойная сердечная недостаточность, атеросклероз, артериосклероз, коронарное заболевание сердца или заболевание периферических артерий, инсульт, дыхательную дисфункцию или заболевание почек.

[0103] Настоящее изобретение также предусматривает способ лечения сахарного диабета 2-го типа, включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, фармацевтической композиции, предусмотренной в данном документе, содержащей пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382). В определенных случаях введение является дополнением к режиму питания и физической нагрузке. Посредством введения может также обеспечиваться снижение веса тела или лечение ожирения. В определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий от 27 до 40 кг/м². В определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий от 30 до 39,9 кг/м². В определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий по меньшей мере 40. В определенных случаях у субъекта имеется избыточный вес. В определенных случаях субъект страдает ожирением.

[0104] Настоящее изобретение также предусматривает способ улучшения гликемического контроля, включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, фармацевтической композиции, предусмотренной в данном документе, содержащей пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382). В определенных случаях введение является дополнением к режиму питания и физической нагрузке. Посредством введения может также обеспечиваться снижение веса тела или лечение ожирения. В определенных случаях у субъекта имеется сахарный диабет 2 типа. В определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий от 27 до 40 кг/м². В определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий от 30 до 39,9 кг/м². В

определенных случаях субъект имеет BMI, составляющий по меньшей мере 40. В определенных случаях у субъекта имеется избыточный вес. В определенных случаях субъект страдает ожирением.

[0105] В определенных вариантах осуществления путь введения предусмотренной в данном документе фармацевтической композиции, содержащей пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), является парентеральным. В определенных вариантах осуществления путь введения предусмотренной в данном документе фармацевтической композиции, содержащей пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), является подкожным. В определенных вариантах осуществления фармацевтическую композицию, предусмотренную в данном документе, содержащую пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), вводят путем инъекции. В определенных вариантах осуществления фармацевтическую композицию, предусмотренную в данном документе, содержащую пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), вводят путем подкожной инъекции.

[0106] В определенных случаях фармацевтическую композицию, предусмотренную в данном документе, содержащую пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), можно вводить один раз в день. В определенных случаях фармацевтическую композицию, предусмотренную в данном документе, содержащую пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), можно вводить один раз в день путем инъекции (например, подкожной инъекции). В определенных случаях фармацевтическую композицию, предусмотренную в данном документе, содержащую пептид, являющийся агонистом GLP-1/глюкагона (например, MEDI0382), можно вводить один раз в день путем инъекции (например, подкожной инъекции) в течение периода по меньшей мере одной недели, периода по меньшей мере двух недель, периода по меньшей мере трех недель или периода по меньшей мере четырех недель.

VI. Наборы

[0107] В других вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает наборы, содержащие описанные в данном фармацевтические композиции пептидов,

являющихся агонистами GLP-1/глюкагона. В определенных вариантах осуществления набор содержит описанную в данном документе композицию пептида, являющегося агонистом GLP-1/глюкагона, в одном или нескольких контейнерах. Специалист в данной области техники без труда поймет, что раскрытые композиции на основе пептидов, являющихся агонистами GLP-1/глюкагона, могут быть легко включены в один из установленных форматов набора, которые хорошо известны из уровня техники.

Примеры

Пример 1. Профиль растворимости и стабильности pH MEDI0382

[0108] Изучали растворимость и стабильность pH пептида MEDI0382, являющегося агонистом GLP-1/глюкагона (фиг. 1). В частности, изучали растворимость в различных типах буферов, буферах с разной ионной силой, чистой воде и органических растворителях. Также оценивали растворимость MEDI0382 при pH в водной среде. Химическая стабильность (измеренная с помощью ультраэффективной жидкостной хроматографии с обращенной фазой (RP-UPLC)) и вторичная структура (измеренная с помощью инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье (FTIR) и УФ-спектроскопии кругового дихоизма (CD)) также оценивали при различных значениях pH. Кроме того, влияние pH на кинетику агрегации MEDI0382 также оценивали в анализе связывания тиофлавина Т (ThT). Результаты этих экспериментов обобщены в таблице 2.

Таблица 2. Сводные данные исследований растворимости и стабильности pH MEDI0382

| Свойство | Описание |
|---|---|
| Физическое состояние | Аморфный порошок, гигроскопичный, светочувствительный |
| Прогнозируемая изоэлектрическая точка | pH(I) = 4,2 |
| Изоэлектрическая точка растворимости | pH(I) = 4,1-4,5 |
| Расчетный молекулярный заряд при pH = 8 | -4 |

| | |
|---|--|
| Предпочтительная растворимость буферов | Фосфат натрия и TRIS |
| Диапазоны ионной силы растворимости | ≥ 25 мМ |
| Растворимость в органических растворителях | Низкая |
| Растворимость при рН водного раствора | Нерастворим при рН от 4,1 до 4,5, растворимость увеличивается при рН от 1 до 3 и от 6 до 13. |
| Химическая стабильность рН водного раствора | Ранжирование стабильности: рН 3-6-7-8 >1,4 >>> 12 Опалесценция и «прилипание» при рН 1,4 Никаких физических изменений при рН от 7 до 8 Общая лучшая стабильность при рН от 7 до 8 |
| Влияние рН на вторичную структуру | Поддерживает β -лист и случайную спираль при рН 6 и увеличивает α -спираль в щелочных условиях (от 7 до 8). |
| Влияние рН на кинетику агрегации | Щелочные условия улучшают кинетику агрегации (большее время задержки при рН 8 (93 часа), меньшее время задержки при рН 6 (часы)) |

[0109] Исследования, приведенные в таблице 2, сыграли ключевую роль в выборе буферного раствора и состава рН, которые были приняты для дальнейшей разработки.

Пример 2. Скрининговое исследование вспомогательных веществ

[0110] Основываясь на результатах исследований растворимости и стабильности рН, внимание было обращено на совместимость MEDI0382 с общепризнанными безопасными (GRAS) вспомогательными веществами для жидких составов, которые можно вводить подкожно. Стабильность MEDI0382 в пятнадцати (15) различных составах оценивали способом динамического рассеяния света (DLS). Результаты кратко изложены в таблице 3.

Таблица 3. Сводные данные химической и физической стабильности скринингового исследования вспомогательных веществ GRAS

| Номер состава | Композиция состава | Полная потеря чистоты способом RP-UPLC при 40°C/неделя | Увеличение размера частиц с помощью DLS при 40°C/неделя | Ранжирование стабильности |
|---------------|---|--|---|---------------------------|
| 1 | 25 мМ РВ ¹ , РG ² 1,85% (вес/об.), рН 7,1 | < 3% | > 10 нм * при 5°C | СРЕДНЯЯ |
| 2 | 50 мМ РВ, РG 1,85% (вес/об.), рН 7,3 | < 3% | < 10 нм | ПРИЕМЛЕМАЯ |
| 3 | 100 мМ РВ, РG 1,85% (вес/об.), рН 7,2 | < 3% | < 10 нм | ПРИЕМЛЕМАЯ |
| 4 | 50 мМ РВ, 100 мМ аргинин, рН 7,2 | > 3% | > 100 нм (2 нед.) | ВЫСОКАЯ |
| 5 | 50 мМ РВ, 50 мМ аргинин + 50 мМ глицин, рН 6,5 | < 3% | > 100 нм (2 нед.) | ВЫСОКАЯ |
| 6 | 50 мМ РВ, сорбит 3% (вес/об.), рН 7,1 | > 3% | < 10 нм | СРЕДНЯЯ |
| 7 | 50 мМ РВ сорбит 1,3% (вес/об.), рН 7,1 | < 3% | > 10 нм | ПРИЕМЛЕМАЯ |
| 8 | 50 мМ РВ, глицерин 0,7% (вес/об.) + РG 1,85% (вес/об.), рН 7,1 | < 3% | < 10 нм | ПРИЕМЛЕМАЯ |
| 9 | 100 мМ TRIS, 150 мМ сорбит, рН 7,2 | > 5% | < 10 нм | ВЫСОКАЯ |
| 10 | 100 мМ TRIS, 150 мМ маннит, 10 мМ метионин, рН 7,2 | < 3% | < 10 нм | ПРИЕМЛЕМАЯ |
| 11 | 100 мМ TRIS, 300 мМ маннит, рН 7,2 | < 3% | < 10 нм | СРЕДНЯЯ |
| 12 | 100 мМ TRIS, 150 мМ маннит, 20 мМ метионин, рН 7,2 | < 3% | < 10 нм | ПРИЕМЛЕМАЯ |
| 13 | 50 мМ TRIS, 150 мМ маннит, рН 6,5 | < 3% | < 10 нм | СРЕДНЯЯ |
| 14 | 50 мМ TRIS, 150 мМ маннит, 10 мМ метионин, рН 7,2 | < 3% | < 10 нм | ПРИЕМЛЕМАЯ |
| 15 | 100 мМ РВ, РG 1,85% (вес/об.), 10 | < 3% | < 10 нм | ПРИЕМЛЕМАЯ |

| | | | | |
|--|------------------------|--|--|--|
| | мМ метионин, рН 7,2 | | | |
|--|------------------------|--|--|--|

¹ PB = натрий-фосфатный буфер

² PG = пропиленгликоль

[0111] В ускоренных условиях состав, содержащий фосфатный буфер, аргинин и глицин (рН 6,5), демонстрировал резкое увеличение Z-средних значений, указывающих на меньшую физическую стабильность. Экспериментальный pI MEDI0382 составлял от 4,1 до 4,5. Предпочтительными вариантами буфера были TRIS и фосфат натрия, а наиболее приемлемыми вспомогательными веществами были маннит, пропиленгликоль и сорбит.

[0112] Принципы ранжирования составов, использованные в таблице 3, включали потерю чистоты пептида (основная площадь пика/общая площадь пика) в ускоренных условиях (потеря чистоты $\leq 3\%$ за 1 неделю при 40°C, низкий риск; потеря чистоты $> 5\%$ в неделю. при 40°C = высокий риск) и физической стабильности при 40 или 5°C (Z-среднее < 10 нм = низкий риск, > 10 нм = средний риск; > 100 нм = высокий риск). Ранжирование стабильности указывает на более низкие характеристики стабильности с аргинином (состав 4 и 5), сорбитом 3% вес/об. (состав 9), низкую ионную силу натрий-фосфатного буфера (состав 1) и рН ниже 7,0 (составы 5 и 13).

[0113] В целом результаты этого исследования указывают на фосфат натрия (> 25 мМ) и буфер TRIS, пропиленгликоль, глицерин, метионин, маннит и рН ≥ 7 .

Пример 3. Исследования стабильности в течение одного и трех месяцев

[0114] Шесть составов были разработаны для дальнейшего развития. Эти составы представлены в таблице 4.

Таблица 4.

| Состав | Композиция | рН |
|--------|---|---------------|
| 1 | 100 мМ TRIS, 150 мМ маннит | 7,2 \pm 0,2 |
| 2 | 100 мМ TRIS, 150 мМ маннит, 10 мМ метионин | 7,2 \pm 0,2 |
| 3 | 100 мМ TRIS, 150 мМ маннит, 20 мМ метионин | 7,2 \pm 0,2 |
| 4 | 50 мМ PB, PG 1,85% (вес/об.) | 7,2 \pm 0,2 |
| 5 | 50 мМ PB, глицерин 0,7% (вес/об.); PG 1,85% (вес/об.) | 7,2 \pm 0,2 |
| 6 | 50 мМ PB, PG 1,85% (вес/об.), 10 мМ метионин | 7,0 \pm 0,2 |

- [0115] Шесть выбранных составов были использованы в одномесячном исследовании стабильности в условиях охлаждения (2-8°C) и неблагоприятных условиях (37°C). Образцы оценивали в нулевой момент времени, через 2 недели и 4 недели с помощью RP-UPLC, DLS, визуального осмотра, визуализации микропотока (MFI), эксклюзионной хроматографии - многоугольного рассеяния света (SEC-MALS).
- [0116] Скорость разрушения, измеренная с помощью RP-UPLC, зависела от температуры. При хранении при 5°C все составы показали уровень чистоты $\geq 96,5\%$ в течение 4 недель. Однако при 37°C состав 1 (TRIS, маннит) показывает значительно более высокие скорости разрушения (уровни чистоты $\geq 80\%$) по сравнению с другими (уровни чистоты $\geq 90\%$). Не было значительных изменений в профиле SEC MALS в течение 4 недель (5°C). Структура более высокого порядка была тримером даже в неблагоприятных условиях.
- [0117] Исследование стабильности предполагает, что все шесть испытанных составов не имеют значительных изменений физико-химической нестабильности в течение 4 недель при хранении при 5°C. Состав 1 ("DF": 100 mM TRIS, 150 mM маннит) был значительно менее стабильным в термически неблагоприятных условиях. Состав 2 (DF + метионин) показал значительное улучшение термической стабильности в принудительных условиях (37°C). Состав 2 (DF + метионин) показал значительное улучшение термической стабильности в принудительных условиях (37°C). Общие составы 2, 4 и 6 демонстрируют предельно лучший профиль стабильности в неблагоприятных условиях.
- [0118] Составы 2, 4 и 6 были выбраны для исследования рК в следующем примере на основании данных о неблагоприятных условиях.
- [0119] Наряду с исследованием в течение одного месяца было проведено трехмесячное исследование стабильности с использованием состава 1 (состав по умолчанию, 100 mM TRIS/150 mM маннит, pH 7,2 \pm 0,2).
- [0120] Состав 1 был выбран для фармакокинетического (PK) исследования в следующем примере на основе трехмесячных данных при 5°C и для сопоставимости с предыдущими доклиническими исследованиями (MsC).

Пример 4. Исследование РК составов

[0121] РК-анализ проводили на крысах (0,1 мг/кг подкожно (sc или SQ)) с использованием составов 1, 2, 4 и 6, выбранных из предыдущего примера. РК-анализ показал сопоставимые период полувыведения и биодоступность для всех четырех исследованных состава. Однако состав 2 (TRIS, маннит, метионин) имел немного более низкую биодоступность, чем другие. Ввиду этого сходства профили химической стабильности использовали для определения приоритета составов. Состав 2 (50 мМ фосфат натрия, пропиленгликоль 1,85% (вес/об.), 5 мг/мл, pH 7,2 ± 0,3) показал лучшие характеристики. Состав 1 был сохранен для дальнейших исследований сопоставимости, а состав 4 продемонстрировал пониженные уровни окисления.

Пример 5 Исследования долгосрочной стабильности

[0122] Для исследования долгосрочной стабильности были отобраны три состава, каждый из которых содержал MEDI0382 в концентрации 5 мг/мл. Эти составы представлены в таблице 5.

Таблица 5. Составы на основе MEDI0382 (5 мг/мл) для исследований долгосрочной стабильности

| Состав | Композиция | pH |
|--------|--|------|
| 1 | 100 мМ TRIS, 150 мМ маннит (DF) | 7,37 |
| 2 | 100 мМ TRIS, 150 мМ маннит, 20 мМ метионин | 7,37 |
| 3 | 50 мМ PB, PG 1,85% (вес/об.) | 7,35 |

[0123] Чистота (RP-UPLC), агрегация (DLS), концентрация пептида (A280), структура высокого порядка (SEC-MALS) (многоугловое (лазерное) рассеяние света), невидимые частицы (MFI), осмолярность, конформационная стабильность (спектрокопия кругового дихроизма (CD)) и pH-тесты. Были исследованы следующие температуры: 5°C, 15°C; 25°C, 40°C и -80°C. Были исследованы следующие временные точки: 0, 2 недели, 1, 2, 3, 6, 9, 12, 24 и 36 месяцев.

- [0124] Уровень разрушения MEDI0382 в месяц был низким (0,3% или ниже). Пути разрушения включали возможную изомеризацию, дезамидирование, окисление и фрагментацию, как было выяснено с помощью LC-MS на основе данных при 40°C. Согласно измерениям с помощью RP-UPLC, разрушение было наибольшим для состава 3 и наименьшим - для состава 1.
- [0125] Оценка агрегации динамическим светорассеянием (DLS) показывает, что не было значительного изменения агрегации при низких температурах (от 5°C до 25°C). Однако наблюдался рост значений Z-среднего в принудительных условиях (40°C), который был более значительным в составе 2.
- [0126] Визуализация микропотока (MFI) показала низкие уровни образования невидимых частиц в диапазоне от ≥ 10 мкм до 25 мкм для всех составов и условий. Результаты SEC-MALS показали, что олигомерные формы, как правило, остаются стабильными в течение 3 месяцев. Состав 1 показал устойчивое падение от тетрамера к тримеру (что указывает на изменение олигомерного состояния), но наблюдение могло быть связано с вариабельностью способа.
- [0127] Не было значительных изменений концентрации пептида, осмолярности или pH в течение 3 месяцев во всех исследуемых условиях.
- [0128] В целом, все 3 состава показали достаточную стабильность при 5°C и -80°C в течение 3 месяцев. Скорость разрушения сильно зависела от температуры, но кинетика разрушения была очень похожей для 3 различных составов. PK (SQ) крысы 3 составов демонстрирует очень похожий профиль. Состав 3 продемонстрировал немного лучшую стабильность по сравнению с составами 1 и 2.
- [0129] Однако через 6 месяцев данные физической стабильности, полученные с помощью DLS и MFI, предполагают, что мог начаться процесс агрегирования. Данные DLS показали резкий рост размера частиц с течением времени, который зависел от температуры. Кроме того, анализ MFI показал рост числа частиц от 1 до 2 мкм при температуре от 5 до -80°C. Эти результаты показали риск агрегации/образования частиц как для жидких, так и для замороженных составов после 6 месяцев хранения в условиях охлаждения (2-8°C).

Пример 6. Токсикологические исследования, не относящиеся к GLP

- [0130] Химическую стабильность MEDI0382 исследовали в 50 мМ фосфатном буфере, 1,85% (вес/об.) пропиленгликоля, pH 7,4. Он был стабильным в неблагоприятных условиях при замораживании и оттаивании, что указывает на то, что приемлемые уровни общего разрушения наблюдались в течение 1-недельного периода при 5°C после 3 циклов стресса при замораживании и оттаивании. Те же исследования показали физическую стабильность состава с помощью динамического рассеяния света (DLS) и визуального контроля за тот же период.
- [0131] Фильтр PES Millex-GP (0,22 мкм) является рекомендуемым фильтром для стерилизации составов.
- [0132] Этот состав MEDI0382 был стабилен в шприцах BD Plastipak в течение не менее 4 часов при комнатной температуре.
- [0133] Однако была выявлена адсорбция пептида на контейнерах при низких уровнях дозирования (ниже 0,1 мг/мл). Этот состав MEDI0382 был исключен, потому что низкие дозы лекарства, которые могут потребоваться для достижения фармакологического (агонистического) эффекта, не могли быть доставлены таким образом.

Пример 7. Оценка контроля адсорбции

- [0134] Учитывая требования к низкой дозе, необходимые для решения проблем адсорбции MEDI0382 и поверхностей для закрытия контейнеров, было изучено добавление поверхностно-активного вещества полисорбата 80. Состав был следующим: 50 мМ натрий-фосфатный буфер (PB) pH 7,5, содержащий 1,85% вес/об. пропиленгликоля (PG) и 0,03% об./об. полисорбата 80 (PS80), MEDI0382 5 мг/мл или 2 мг/мл.
- [0135] Образцы подвергали воздействию температуры и замораживанию/оттаиванию и анализировали на чистоту, агрегацию, визуальный осмотр и наличие невидимых частиц.
- [0136] RP-UPLC использовали для оценки чистоты состава в течение 2 месяцев при 5, 25, 32 и 40°C. Результаты показывают зависимость стабильности от температуры, при этом более высокие температуры приводят к снижению чистоты.
- [0137] Через месяц физическую стабильность измеряли с помощью DLS. Средние значения Z резко увеличивались в течение месяца при всех температурах, кроме -80°C,

что свидетельствует о высоком уровне агрегации. В соответствии с результатами DLS, визуальный осмотр показал гелеобразный вид после 2-месячного хранения. Таким образом, все методы показали физическую нестабильность состава при всех температурах, кроме -80°C .

[0138] В исследованиях замораживания/оттаивания состав исследовали в присутствии или в отсутствие полисорбата 80 (0,3% об./об.) с 2 мг/мл или 5 мг/мл белка. Свежие растворы (стеклянные флаконы, тип I, прозрачные) замораживали тремя циклами замораживания/оттаивания. После оттаивания образцы хранили при 5 и 25°C до 3 недель и анализировали визуальным осмотром. Образцы без замораживания обрабатывали параллельно в качестве контроля. Во втором исследовании совместимость контейнеров оценивали с использованием Nalgene HDPE (более подходящего для токсикологических исследований). В этом случае анализировали только состав с концентрацией 5 мг/мл.

[0139] Если взять вместе исследования жидкости и стресса при замораживании/оттаивании, данные показывали, что полисорбат 80 влияет на физическую стабильность (гелеобразный вид) состава. Концентрация пептида, температура и стресс при замораживании/оттаивании являются наиболее значимыми идентифицированными факторами, регулирующими физическую стабильность этого состава MED0382.

Пример 8. 9-Месячное исследование стабильности

[0140] Стабильность двух составов MED10382 с концентрацией 5 мг/мл анализировали в течение 9 месяцев. Первый состав содержал фосфатный буфер в концентрации 50 мМ; 1,85% (вес/об.) и пропиленгликоль, pH 7,4, а второй состав содержал TRIS в концентрации 100 мМ, маннит в концентрации 150 мМ, метионин в концентрации 20 мМ, pH 7,4. Два разных состава демонстрируют очень похожую потерю чистоты в течение 9 месяцев.

[0141] В другом 9-месячном исследовании изучали стабильность 3 составов MED10382 в условиях охлаждения. Первый состав содержал TRIS в концентрации 100 мМ, маннит в концентрации 150 мМ, pH 7,4. Второй состав содержал TRIS в концентрации 100 мМ, маннит в концентрации 150 мМ, метионин в концентрации 20 мМ, а третий состав содержал фосфатный буфер в концентрации 50 мМ; 1,85% (вес/об.) пропиленгликоля, pH 7,4. Составы были проанализированы с помощью DLS и MFI.

Третий состав показал резкое увеличение Z-среднего размера частиц (DLS) в период от 3 до 9 месяцев. Аналогичная картина наблюдалась с невидимыми частицами при анализе MFI, что свидетельствует о высоком уровне агрегации и формировании невидимых частиц.

[0142] В целом, хотя наблюдалась приемлемая химическая стабильность, высокие уровни агрегации были выявлены в момент времени 6 месяцев. Фибрилляция может быть механизмом агрегации.

Пример 9. Снижение концентрации белка MEDI0382 до 2 мг/мл

[0143] Для увеличения срока хранения препарата оценивали препараты с 2 мг/мл MEDI0382. Химическая стабильность составов 2 мг/мл и 5 мг/мл была очень похожей, но уменьшение концентрации пептида не улучшало физическую стабильность. Резкое увеличение общего количества невидимых частиц наблюдали с помощью MFI в момент времени 6 месяцев для состава 2 мг/мл и в момент времени 12 месяцев для состава 5 мг/мл. Аналогичным образом, анализ DLS показал увеличение Z-среднего с 6 месяцев для состава 2 мг/мл и в момент времени 12 месяцев для состава 5 мг/мл. Два из пяти образцов с концентрацией 5 мг/мл превратились в гель на 13-м месяце, а на 18-м месяце остальные три образца с концентрацией 5 мг/мл превратились в гель. Ни один из образцов с концентрацией 2 мг/мл не превратился в гель до 18 месяцев.

[0144] Стабильность pH составов с концентрацией 2 мг/мл также изучали при pH 7,0, 7,5 и 8,0 в стеклянных флаконах. Затем составы стабилизировали при 5°C и 40°C на три месяца. Образцы анализировали с помощью RP-UPLC, DLS и AFM. Повышенные уровни агрегации и потеря чистоты наблюдались при pH от 7 до 7,5. Физико-химическая стабильность была улучшена за счет увеличения pH до 7,8.

[0145] Химическая стабильность составов с концентрацией 2 и 5 мг/мл находилась в пределах допустимых уровней для испытаний на людях в виде жидкого лекарственного препарата ($\geq 94\%$ в момент времени 12 месяцев). Присутствие полисорбата 80 влияет на физическую стабильность (гелеобразный вид) состава. Концентрация пептидов, температура и стресс при замораживании/оттаивании являются наиболее значимыми идентифицированными факторами, влияющими на физическую стабильность MEDI0382, содержащего PS80. Температура по-разному влияет на время, необходимое для

формирования гелеобразного вида, в зависимости от типа закрытия емкости. В случае стеклянного флакона гелеобразное образование ускоряется при низких температурах (5°C). Напротив, для составов, хранящихся в Nalgene HDPE, гелеобразование ускоряется при более высоких температурах. Физическая стабильность MEDI0382 очень чувствительна к pH конечной композиции. Повышенная физическая стабильность достигается за счет повышения pH с 7 до 7,8. Механизм агрегации MEDI0382 заключается в полимеризации пептида в фибриллы. Изменение концентрации MEDI0382 с 5 мг/мл до 2 мг/мл (без PS80) не улучшает кинетику агрегации. Состав с концентрацией 2 мг/мл и pH 7,8 не образует фибрилл до 7 месяцев хранения в условиях охлаждения. Стабильность GMP стабильности состава цикла составляет не менее 30 месяцев в условиях охлаждения.

[0146] Состав, содержащий натрий-фосфатный буфер (PB) в концентрации 50 мМ с pH 7,8, содержащий 1,85% вес/об. пропиленгликоля (PG), жидкий лекарственный препарат (DP) 2 мг/мл MEDI0382 для введения в стеклянный флакон и шприц, был рекомендован для введения людям. Рецептuru состава показана в таблице 6 ниже.

Таблица 6. Рецептuru буфера состава, ориентированная на pH 7,8, сила 2 мг/мл MEDI0382

| Составляющ ие | Формула | Молекулярн ая масса (Дальтон) | Требуемое количество (г/кг) |
|--|--|-------------------------------------|--------------------------------|
| Фосфат натрия, одноосновны й, моногидрат | $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | 137,99 | 0,5 |
| Фосфат натрия, двухосновны й, 7 гидрат | $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 268,07 | 12,34 |
| Пропиленгли коль (PG) | $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_2$ | 76,09 | 18,35 |
| Вода | H_2O | 18,0 | До 1 кг |
| MEDI0382 | $\text{C}_{167}\text{H}_{252}\text{N}_{42}\text{O}_{55}$ | 3728,04 | 2,08 |

Пример 10. Снижение концентрации белка MEDI0382 до 0,5 мг/мл

- [0147] Дальнейшее снижение концентрации белка MEDI0382 требовалось в зависимости от предполагаемого количества лекарственного средства, вводимого пациентам-людям. Таким образом, оценивали составы с концентрацией 0,5 мг/мл, совместимые с использованием предварительно заполненных шприцев (PFS). Составы, содержащие натрий-фосфатный буфер в концентрации 50 мМ, pH 7,8, 1,85% пропиленгликоля (вес/об.) и MEDI0382, были помещены в три различные условия: (i) в стеклянном флаконе при 2 мг/мл, (ii) в стеклянном флаконе при 0,5 мг/мл и (iii) в PFS при 0,5 мг/мл (в BD 29 PFS, силиконизированном). PFS имел заполняемый объем 0,15 мл. Стеклянные флаконы вручную заполняли 2,0 мг/мл или 0,5 мг/мл MEDI0382 при объемах заполнения 1,0 мл. Стабильность оценивали при 5°C, 25°C и 45°C в период 0, 2 недели, 4 недели, 6 недель и 3 месяца.
- [0148] Результаты показали сопоставимую стабильность для всех трех различных форм и приемлемую стабильность для введения людям (чистота $\geq 95\%$). Однако в составах PFS присутствовало больше невидимых частиц (измеренных с помощью MFI) по сравнению с составами в стеклянных флаконах. Был разработан следующий состав, ориентированный на 0,5 мг/мл MEDI0382.

Таблица 7. Рецепт буфера состава, ориентированная на pH 7,8, сила 0,5 мг/мл MEDI0382

| Составляющие | Формула | Молекулярная масса (Дальтон) | Требуемое количество (г/кг) |
|---|---|------------------------------|-----------------------------|
| Фосфат натрия, одноосновный, моногидрат | $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | 137,99 | 0,72 |
| Фосфат натрия, двухосновный, 7 гидрат | $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 268,07 | 11,87 |
| Пропиленгликоль (PG) | $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_2$ | 76,09 | 18,35 |

| | | | |
|----------|---|---------|---------|
| Вода | H ₂ O | 18,0 | До 1 кг |
| MEDI0382 | C ₁₆₇ H ₂₅₂ N ₄₂ O ₅₅ | 3728,04 | 0,505 |

Пример 11. Влияние буферов и вспомогательных веществ на стабильность

[0149] Было желательно разработать шприц-ручку для многократного применения с переменной дозой для ежедневной подкожной инъекции (до 6 доз), в которой каждая шприц-ручка могла бы содержать до 30 доз, а каждая суточная доза могла составлять от 50 до 300 мкг MEDI0382. Консервант может потребоваться для обеспечения микробной безопасности после приведения в действие устройства в виде шприц-ручки. Поэтому для разработки этого состава был проведен дополнительный анализ состава. В частности, влияние pH, буфера и вспомогательных веществ в присутствии противомикробных препаратов на физическую и химическую стабильность MEDI0382 оценивали с MEDI0382 при концентрации 5 мг/мл.

[0150] Влияние вспомогательных веществ на образование волокон анализировали, оценивая, могут ли аминокислоты и двухвалентные ионы предотвращать образование волокон при pH 7,5. MEDI0382 смешивали с L-глутаминовой кислотой, лимонной кислотой, L-аргинином, L-гистидином или хлоридом магния в 50 мМ фосфатном буфере при конечном pH 7,5. Образование волокон оценивали с помощью анализа связывания тиофлавина Т (ThT). Результаты, показанные на фиг. 2, демонстрируют, что ни одно из вспомогательных веществ не стабилизировало MEDI0382. Фактически, по сравнению с отрицательным контролем, все тестируемые вспомогательные вещества дестабилизировали MEDI0382.

[0151] Было проведено другое исследование, чтобы понять влияние трегалозы, сахарозы, L-лизина, сорбита, маннита, цитрата натрия и пропиленгликоля на стабильность MEDI0382 в присутствии 50 мМ фосфатного буфера при конечном pH 7,5. Образование волокон снова оценивали с помощью анализа ThT. Результаты, показанные на фиг. 3, демонстрируют, что маннит, сорбит, трегалоза и пропиленгликоль не вызывали значительного увеличения фибрилляции (данные по сорбиту и трегалозе на фиг.3 частично совпадают с контрольными данными), в то время как сахароза, лизин и цитрат натрия повышали нестабильность. Химическое разрушение, связанное с этими

вспомогательными веществами, также отслеживалось в течение одного месяца для образцов, хранящихся при 5°C и 40°C, с использованием анализа RP-UPLC. Результаты показали, что трегалоза значительно ускоряет химическое разрушение. И сорбит, и маннит (чистота 97% при 5°C) вызывали меньшее химическое разрушение, чем пропиленгликоль (чистота 95%) (данные при 40°C см. на фиг. 4). Образование частиц, связанных с этими вспомогательными веществами, также контролировали путем визуального осмотра после встряхивания (800 об/мин в течение 4 часов). Трегалоза, сорбит, пропиленгликоль и контрольный образец дали небольшое количество частиц. Однако образцы цитрата и лизата превращали в твердый белый гель и мягкий гель соответственно, а состав маннита стал мутным.

[0152] На основании этой серии экспериментов сорбит, маннит и пропиленгликоль дали наилучшие результаты.

Пример 12. Зависимость образования геля MEDI0382 от pH

[0153] Хотя полисорбат 80 обычно используют для предотвращения агрегации, он вызывал быстрое формирование геля из MEDI0382 в составе с pH 7,5. (См. пример 7). Поэтому гелеобразование было исследовано при двух других значениях pH: 6,8 и 8,3.

[0154] В этих экспериментах составы с 0,03% полисорбата 80 сравнивали с составами без полисорбата 80. Образцы инкубировали 7 дней при 50°C. Образец, содержащий полисорбат 80 с pH 6,9, превратился в твердый гель, тогда как образец с pH 8,3 - нет. На этом этапе к гелеобразному образцу добавляли 10 mM NaOH, и образец снова становился жидким. Затем все образцы инкубировали еще 12 дней. Образец с pH 6,9 без полисорбата 80 превратился в мягкий гель, но остальные остались жидкими. Эти результаты демонстрируют, что полисорбат 80 может ускорять образование геля, но этот эффект зависит от pH и является обратимым.

Пример 13. Влияние вспомогательных веществ на стабильность в присутствии противомикробных препаратов

[0155] Физическая стабильность MEDI0382 имеет оптимальный pH > 7,8. Немногие консерванты активны в этом диапазоне pH. Проводили три серии экспериментов для оценки физической и химической стабильности MEDI0382 в ускоренных условиях в

различных буферах и вспомогательных веществах в консервантах, представляющих собой фенол и м-крезол.

- [0156] В одной серии экспериментов маннит (0-300 мМ) и пропиленгликоль (0-2%) оценивали с м-крезолом (0-0,3%) и фенолом (0-1%) в 50 мМ фосфатном буфере при рН 8,0. Образцы инкубировали при 5°C и 40°C, а химическую чистоту контролировали в течение четырех недель. Для всех образцов проводили исследования со встряхиванием и визуальный осмотр. Физическую стабильность оценивали с помощью анализа ThT.
- [0157] В этих экспериментах, где рН поддерживали постоянным на уровне 8, наблюдали противоположные эффекты консервантов на химическую и физическую стабильность. (Фиг. 5). Консерванты оказывали небольшое отрицательное влияние на фибрилляцию, но небольшое положительное влияние на химическую стабильность. Маннит и пропиленгликоль не оказывали значительного влияния на чистоту или физическую стабильность.
- [0158] В другой серии экспериментов изучали влияние сорбита (0-250 мМ), пропиленгликоля (0-2%) и фенола (0-2%) в диапазоне рН 7-8,2 на физическую стабильность MEDI0382. Физическую стабильность контролировали с помощью DLS (планшет-ридер DynaPro, Wyatt) и анализа ThT. Результаты, показанные на фигуре 6, демонстрируют, что высокий рН благоприятен для физической стабильности MEDI0382 в присутствии всех исследуемых вспомогательных веществ.
- [0159] В третьей серии экспериментов воздействие сорбита (0-250 мМ), глицерина (0-5%), метионина (0-10 мМ) и м-крезола (0-0,3%) в диапазоне рН 7-8,2 на стабильность MEDI0382. Химическую стабильность контролировали с помощью RP-UPLC. Физическую стабильность оценивали с помощью ThT и экспериментов со встряхиванием. Химическую стабильность контролировали с помощью RP-UPLC. Результаты этих экспериментов показывают небольшое отрицательное влияние м-крезола и небольшое положительное влияние метионина на физическую стабильность.
- [0160] В целом, результаты этих трех серий экспериментов показывают, что рН является основным фактором, влияющим как на физическую, так и на химическую стабильность MEDI0382, и этому нельзя было противодействовать никаким испытанным вспомогательным веществом или консервантом. И физическая, и химическая стабильности улучшаются при $\text{pH} \geq 8$. MEDI0382 менее стабилен в присутствии лизина, трегалозы, сахарозы, цитрата натрия, хлорида магния (MgCl_2), цитрата, гистидина,

аргинина или глутаминовой кислоты. м-Крезол или фенол показали слабое влияние на физическую или химическую стабильность MEDI0382 в присутствии сорбита, маннита, пропиленгликоля или глицерина, а добавление до 10 мМ метионина могло повысить физическую стабильность MEDI0382.

Пример 14. Долгосрочная стабильность

[0161] Исследования, которые обсуждались в примере 13, идентифицировали потенциальные вспомогательные вещества для максимизации стабильности MEDI0382 с использованием краткосрочных ускоренных исследований стабильности. Однако кинетика агрегации MEDI0382 может быть очень медленной, и проблемы со стабильностью, такие как образование частиц и гелеобразование, могут возникать в течение длительных периодов времени. Таким образом, семь (7) составов были разработаны для исследований долгосрочной стабильности.

[0162] Сорбит, пропиленгликоль и маннит были выбраны для анализа в качестве средств, регулирующих тоничность. Целевой профиль продукта для MEDI0382 составляет 290-300 мОсм/кг, а концентрация средства, регулирующего тоничность, была скорректирована соответствующим образом для достижения этого. И фенол, и м-крезол были проанализированы как консерванты. Кроме того, с учетом того, что требуется pH 8,1 для оптимальной стабильности, фосфат натрия был исследован в качестве буферного средства в концентрации 20 мМ. Гидроксид натрия использовали для регулирования конечного pH состава, поскольку фосфат натрия имеет более низкую буферную емкость при pH 8,1, а концентрация MEDI0382 влияет на конечный pH состава. Следующие семь составов в таблице 8 были проанализированы на основе этих критериев.

Таблица 8. Семь составов MEDI0382 (5 мг/мл), оцененных в отношении долгосрочной стабильности

| Состав | Компоненты |
|--------|--|
| А | 20 мМ фосфат натрия (NaPi), 220 мМ сорбит, 0,5% фенола NaOH для pH 8,1 |
| В | 20 мМ фосфат натрия (NaPi), 220 мМ сорбит, 10 мМ метионин, 0,5% фенола NaOH для pH 8,1 |
| С | 20 мМ фосфат натрия (NaPi), 220 мМ сорбит, 10 мМ метионин, 0,3% м-крезола, NaOH для pH 8,1 |

| | |
|---|--|
| D | 20 мМ фосфат натрия, 1,85% PG, 0,5% фенола, NaOH для pH 8,1 |
| E | 20 мМ фосфат натрия (NaPi), 10 мМ цитрат, 1,35% PG, 0,5% фенола, NaOH для pH 8,1 |
| F | 20 мМ фосфат натрия (NaPi), 1,85% PG, 0,3 м-крезола, NaOH для pH 8,1 |
| G | 220 маннита, 0,5% фенола, NaOH для pH 8,1 |

- [0163]** Метионин (10 мМ) добавляли в составы А и В, чтобы оценить его способность повышать химическую стабильность MEDI0382, а цитрат (10 мМ) добавляли в состав Е, чтобы оценить его способность действовать как антимикробное средство.
- [0164]** Семь составов получали путем осторожного растворения MEDI0382 в 0,185 М гидроксиде натрия (NaOH) для достижения 2-кратной конечной концентрации пептида. Затем к 2-кратному раствору MEDI0382 добавляли раствор, содержащий 2-кратную концентрацию всех других компонентов конечного состава. Смешанный раствор фильтровали и при необходимости доводили pH с помощью 0,1 М NaOH. Плацебо для каждого состава А-Г также получали для заполнения. Картриджи и флаконы были заполнены составами.
- [0165]** Первичный контейнер для MEDI0382 представляет собой картридж объемом 3 мл (картриджи для заполнения Opri EZ, номер по каталогу 70109079) с проницаемой мембраной и резиновой пробкой (FORMULA ART22234023/50GRY). Картриджи заполняли вручную и закупоривали с помощью ручного укупорочного приспособления. Объем заполнения составлял 3 мл.
- [0166]** Чистоту MEDI0382 в семи различных составах (А-Г) контролировали в течение 6 месяцев при 25°C и в течение 24 месяцев при 5°C. Химическое разрушение составов, хранимых при 25°C, не выявило каких-либо различий между составами, а потеря чистоты составила около 2% в месяц. (Фиг. 7).
- [0167]** Для некоторых составов наблюдали увеличение гидродинамического диаметра, указывающее на то, что происходит агрегация. В составах D, E и F увеличение проявилось через 9-12 месяцев для картриджей, хранящихся при 5°C. (См. таблицу 9 ниже). Все составы D, E и F содержат пропиленгликоль в качестве средства, регулирующего тоничность.

Таблица 9. Dh(d) семи составов MEDI0382 в картриджах, хранящихся при 5°C.

| Dh(d) (нм) | T=0 | T=3 | T=6 | T=9 | T=12 |
|------------|-----|-----|------|------------------|-------|
| A | 4,9 | 7,2 | 9,5 | 5,5 | 12,3 |
| B | 5,4 | 6,5 | 6,5 | 4,1 | 6,1 |
| C | 4,8 | 9,2 | 7,6 | 4,9 | 5,4 |
| D | 4,5 | 7,8 | 6,5 | не определено | 104,1 |
| E | 4,9 | 7,1 | 7,9 | не определено | 324,8 |
| F | 8,0 | 5,6 | 10,3 | 6,6 | 316,8 |
| G | 7,9 | 8,0 | 6,9 | не определено | 6,6 |

[0168] Модель прогнозирующего профилировщика использовали для оценки влияния различных компонентов состава на общую чистоту и примеси семи составов MEDI0382 5 мг/мл. Результаты показаны на фиг. 8. Маннит и цитрат не влияли на профиль чистоты. Сорбит улучшает общий уровень чистоты лекарственного вещества (DS) и снижает уровень окисления. Метионин немного увеличивает степень окисления и уменьшает общее количество примесей. Фосфат натрия снижает общую чистоту и увеличивает общее количество примесей. м-Крезол снижает уровень окисления.

[0169] Никаких серьезных изменений осмоляльности, вязкости или pH в семи составах не наблюдали. Состав G не изменял pH с течением времени, даже несмотря на то, что в нем не было фосфатного буфера. Это говорит о том, что фосфат натрия не нужен для контроля pH в этом составе.

[0170] Визуальный осмотр через 24 месяца показал изменение внешнего вида картриджей с пузырьками воздуха или без них. Большинство картриджей с пузырьками воздуха содержали видимые частицы, тогда как все картриджи без пузырьков воздуха не содержали видимых частиц. Исключением был состав G, в котором ни картридж, содержащий пузырьки воздуха, ни картридж без пузырьков воздуха не содержали видимых частиц.

[0171] Также отслеживали невидимые частицы. В течение 24 месяцев состав F был единственным составом в картриджах, хранимых при 5°C, который показал увеличение количества частиц. Волокнистые частицы также были видны в некоторых составах, хранящихся во флаконах при 25°C в течение приблизительно 6 месяцев. Размер частиц составлял приблизительно 5-100 мкм. Размер волокнообразных частиц в картридже для состава F через 24 месяца при 5°C был меньше, 5-40 мкм. Волокна, по-видимому, легче

формировались во флаконах, чем в картриджах, возможно, из-за большей границы раздела с воздухом во флаконе.

[0172] В целом составы А-Г имели аналогичные профили разрушения со скоростью приблизительно 1,1-2% в год при 5°C. Скорость разрушения не зависела от типа средства, регулирующего тоничность (сорбит, маннит или пропиленгликоль), но все составы, содержащие пропиленгликоль, имели высокие уровни агрегации, измеренные с помощью DLS, начиная с 12 месяцев при хранении при 5°C. Гелеобразования не наблюдали в течение 2 лет при 5°C или 6 месяцев при 25°C. Не было заметной разницы между сорбитом и маннитом как средствами, регулирующими тоничность. Все составы, содержащие сорбит, а также состав с маннитом показали физико-химическую стабильность в течение 2 лет. Сорбит и м-крезол могут улучшить общий уровень примесей. Таким образом, сорбит в качестве средства, регулирующего тоничность, и целевой рН 8,1, по-видимому, обеспечивает наиболее стабильный состав. Поскольку неясно, будут ли более низкие концентрации MEDI0382 стабильными в отсутствие натрий-фосфатного буфера, натрий-фосфатный буфер считается полезным, даже если он может снизить общую чистоту.

Пример 15. Эффективность консерванта

[0173] Эффективность консервантов в семи составах MEDI0382, оцениваемых в примере 14, также анализировали с использованием теста в отношении эффективности антибактериального предохранения в Европейской фармакопее. Результаты показаны в таблице 10.

Таблица 10. Данные тестов эффективности консервантов (PET) семи MEDI0382

| Состав | Организм | Инокулят | День 0 | 6 часов | 24 часа | День 7 | День 14 | День 28 |
|--------------------|------------------------|----------|-----------|------------|------------|-----------|------------|------------|
| | | | | | | | | |
| Состав буфера А | <i>S. aureus</i> | 5,8 | 5,7 | 5,5 | 4,9 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>P. aerug</i> | 6,0 | 5,9 | 1,6 | <1,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>E. coli</i> | 5,9 | 5,9 | 5,1 | <1,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>C. albicans</i> | 5,7 | 5,8 | 5,6 | 5,6 | 2,4 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>A. brasiliensis</i> | 5,5 | 5,4 | 5,3 | 4,8 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| Состав буфера В | <i>S. aureus</i> | 5,8 | 5,8 | 5,0 | 5,6 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>P. aerug</i> | 6,0 | 5,9 | 2,5 | <1,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |

| | | | | | | | | |
|-----------------|------------------------|-----|-----|------------|------|------|------|------|
| | <i>E. coli</i> | 5,9 | 5,9 | 5,5 | 2,3 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>C. albicans</i> | 5,7 | 5,9 | 5,7 | 5,7 | 3,7 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>A. brasiliensis</i> | 5,5 | 5,4 | 5,3 | 4,9 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| Состав буфера С | <i>S. aureus</i> | 5,8 | 5,6 | 5,7 | <1,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>P. aerug</i> | 6,0 | 4,6 | <1,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>E. coli</i> | 5,9 | 5,9 | <1,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>C. albicans</i> | 5,7 | 5,8 | 5,5 | 5,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>A. brasiliensis</i> | 5,5 | 5,6 | 5,3 | 3,9 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| Состав буфера D | <i>S. aureus</i> | 5,6 | 5,8 | 5,3 | 1,9 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>P. aerug</i> | 5,8 | 5,8 | <1,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>E. coli</i> | 6,0 | 6,0 | 4,9 | <1,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>C. albicans</i> | 5,8 | 5,8 | 5,7 | 5,5 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>A. brasiliensis</i> | 5,7 | 5,7 | 5,4 | 4,9 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| Состав буфера E | <i>S. aureus</i> | 5,6 | 5,9 | 5,2 | 1,3 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>P. aerug</i> | 5,8 | 5,8 | <1,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>E. coli</i> | 6,0 | 6,0 | 3,9 | <1,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>C. albicans</i> | 5,8 | 5,8 | <1,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>A. brasiliensis</i> | 5,7 | 5,7 | 5,4 | 4,9 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| Состав буфера F | <i>S. aureus</i> | 5,6 | 5,7 | 4,9 | <1,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>P. aerug</i> | 5,8 | 5,8 | <1,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>E. coli</i> | 6,0 | 5,6 | 1,3 | <1,0 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>C. albicans</i> | 5,8 | 5,8 | 5,7 | 5,5 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |
| | <i>A. brasiliensis</i> | 5,7 | 5,7 | 5,6 | 4,8 | <1,0 | <1,0 | <1,0 |

[0174] Ни один из составов А-Г не соответствовал строгим ("А") европейским критериям. Это несмотря на то, что составы содержали концентрации фенола или м-крезола, которые были близки к наивысшим концентрациям, ранее одобренным Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (т.е. 0,55% вес/объем Фенола в Victoza® и 0,315% вес/об. м-крезола в Humalog®). Обычно *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* безуспешны через 6 или 24 часа.

Пример 16. Состав с концентрацией 1-2 мг/мл MEDI0382

[0175] Клинические результаты показали, что требуются менее концентрированные составы MEDI0382, поэтому были проведены дополнительные исследования для оценки долгосрочной стабильности составов MEDI0382 с концентрацией 1 и 2 мг/мл и для дальнейшего улучшения антимикробной активности состава. Три состава, показанные в таблице 11, были тестированы в исследовании долгосрочной стабильности (LTS).

Таблица 11. Составы MEDI0382 с концентрацией 1 и 2 мг/мл, испытанные в анализе LTS

| Состав | Конц. MEDI0382 | Композиция буфера |
|--------|----------------|---|
| 1 | 2 мг/мл | 20 мМ фосфат натрия (NaPi), 220 мМ сорбит, 0,55% фенола, pH 8,1 |
| 2 | 1 мг/мл | 20 мМ фосфат натрия (NaPi), 220 мМ сорбит, 0,55% фенола, pH 8,1 |
| 3 | 1 мг/мл | 20 мМ фосфат натрия (NaPi), 220 мМ сорбит, 0,3% м-крезола, pH 8,1 |

[0176] Результаты анализа долгосрочной стабильности показаны в таблице 12.

Таблица 12. Результаты анализа LTS в отношении составов MEDI0382 в концентрации 1 и 2 мг/мл

| Состав | После доставки | % чистоты через 3 месяца | | % потери в месяц | |
|--------|----------------|--------------------------|------|------------------|------|
| | | 5°C | 25°C | 5°C | 25°C |
| 1 | 98,1 | 97,9 | 92,7 | 0,1 | 1,8 |
| 2 | 97,8 | 97,8 | 91,8 | 0 | 2,0 |
| 3 | 96,8 | 96,8 | 91,1 | 0 | 2,0 |

[0177] Исследование эффективности консерванта (PET) также проводили на тех же трех составах, анализируя два микроорганизма, которые были безуспешны в примере 15. Результаты показаны в таблице 13.

Таблица 13. Результаты PET для составов MEDI0382 в концентрации 1 и 2 мг/мл

| | Логарифмическое сниж. | | Логарифмическое сниж. | |
|----------------|-----------------------|-------|-----------------------|-------|
| Буфер 1 | T0 (основной объем) | | T 1 M (25C) картридж | |
| Время | 6 ч. | 24 ч. | 6 ч. | 24 ч. |
| <i>Staph</i> | 0,4 | 4,2 | 0,3 | 3,2 |
| <i>E coli</i> | 4,7 | 5,1 | 4,6 | 5,0 |
| Буфер 2 | | | 6 ч. | 24 ч. |
| Время | 6 ч. | 24 ч. | | |
| <i>Staph</i> | 1,0 | 5,2 | 0,7 | 5,4 |
| <i>E coli</i> | 5,1 | 5,1 | 5,0 | 5,0 |
| Буфер 3 | | | 6 ч. | 24 ч. |
| Время | 6 ч. | 24 ч. | | |
| <i>Staph</i> | 0,5 | 3,4 | 0,3 | 2,8 |
| <i>E coli</i> | 5,1 | 5,1 | 5,0 | 5,0 |

[0178] Все составы MEDI0382 с концентрацией 1 и 2 мг/мл соответствовали менее строгим европейским («В») критериям для *Staphylococcus aureus* (<2 логарифмическое снижение, 6 часов) и более строгим европейским («А») критериям для *E. coli* (> 2 логарифмическое снижение через 6 часов и > 3 через 24 часа). Не было значительных различий в результатах между нулевым временем и 25°C хранения в картридже в течение месяца.

Пример 17. Стабильность и антимикробная активность составов MEDI0382 с концентрацией 2 мг/мл

[0179] Дополнительно были изучены различные составы, содержащие 220 мМ сорбит, 20 мМ фосфат натрия, гидроксид натрия для доведения pH до 8,1, MEDI0382 (1 или 2 мг/мл), а также фенол (твердый или жидкий) или мета-крезола. Составы, испытанные в этих экспериментах, показаны в таблице 14.

Таблица 14. Составы MEDI0382 для исследования краткосрочной стабильности

| Номер состава | Консервант | мг/мл | %вес/объем консерванта | Сорбит мМ | NaOH мМ | Буфер мМ | pH |
|---------------|----------------------------|-------|------------------------|-----------|---------|----------|-----|
| 1 | Жидкий фенол | 1 | 0,35 | 220 | 1 | 20 | 8,1 |
| 2 | | | 0,45 | | | | |
| 3 | | | 0,55 | | | | |
| 4 | Отдельные кристаллы фенола | | 0,35 | | | | |
| 5 | | | 0,45 | | | | |
| 6 | | | 0,55 | | | | |
| 7 | Отдельные кристаллы фенола | 2 | 0,35 | | | | |
| 8 | | | 0,45 | | | | |
| 9 | | | 0,55 | | | | |
| 10 | м-Крезол (Sigma) | 1 | 0,2 | | 1 | | |
| 11 | | | 0,25 | | | | |
| 12 | | | 0,3 | | | | |
| 13 | м-Крезол (Hedinger) | 1 | 0,2 | | 1 | | |
| 14 | | | 0,25 | | | | |
| 15 | | | 0,3 | | | | |

[0180] Для получения этих составов моногидрат одноосновного фосфата натрия (34 мг) и двухосновный гептагидрат фосфата натрия (1,01 г) растворяли в 80% наполнении (160 мл) 1 или 2 мМ NaOH (как указано в таблице 14) в течение 20-30 минут с магнитным перемешиванием. К этому раствору добавляли D-сорбит (8,02 г) и перемешивали в

течение 10 минут. Добавление фенола, м-крезола и MEDI0382 проводили в камере с перчатками. В зависимости от консерванта добавляли вес с поправкой на плотность и чистоту. Затем растворы оставляли перемешиваться на 1 час с помощью магнитной мешалки. MEDI0382 добавляли с избытком 10% для учета чистоты и содержания воды. Затем образцы оставляли растворяться без перемешивания в течение 30 минут при комнатной температуре.

[0181] Затем определяли и регулировали pH, используя 100 мМ NaOH. Затем растворы доводили до 200 мл, используя деионизированную воду milli-Q. Концентрации пептида и консерванта для каждого раствора определяли с помощью RP-UPLC, где MEDI0382 был разбавлен до 0,5 мг/мл. Затем образцы покрывали либо пептидом, либо консервантом для достижения требуемых концентраций, перечисленных в таблице 14. Фактические концентрации (измеренные с помощью RP-UPLC) по сравнению с целевыми концентрациями показаны в таблице 15.

Таблица 15. Целевые и фактические концентрации консервантов и пептидов в составах MEDI0382

| <u>Консервант</u> | <u>Целевой (%вес/об.)</u> | <u>Фактический (%вес/об.)</u> | <u>Целевой [пептид] (мг/мл)</u> | <u>Фактический [пептид] (мг/мл)</u> |
|--------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|--|--|
| Жидкий фенол | 0,35 | 0,38 | 1 | 1,04 |
| | 0,45 | 0,45 | 1 | 1,01 |
| | 0,55 | 0,56 | 1 | 1,07 |
| Твердый фенол | 0,35 | 0,35 | 1 | 1,11 |
| | 0,45 | 0,44 | 1 | 1,07 |
| | 0,55 | 0,57 | 1 | 1,13 |
| Твердый фенол | 0,35 | 0,38 | 2 | 2,14 |
| | 0,45 | 0,43 | 2 | 1,70 |
| | 0,55 | 0,54 | 2 | 2,00 |
| м-Крезол (sigma) | 0,20 | 0,22 | 1 | 1,13 |
| | 0,25 | 0,28 | 1 | 0,96 |
| | 0,30 | 0,30 | 1 | 1,01 |
| м-Крезол (Hedinger) | 0,20 | 0,22 | 1 | 1,04 |
| | 0,25 | 0,25 | 1 | 1,01 |
| | 0,30 | 0,31 | 1 | 1,05 |

[0182] Полученные растворы защищали от света, и 3 мл каждого раствора в асептических условиях помещали в 3cc флаконы (SCHOTT 10cc 20 мм Falcon 10R; Part; CM1023) с использованием PVDF-фильтров 0,2 мкм и 5 мл фильтров BD Plastik.

[0183] Каждый образец был исследован в отношении стабильности и эффективности консерванта. Результаты анализов химической стабильности показаны на фигурах 9-13. Результаты анализов физической стабильности показаны в таблице 16 ниже.

Таблица 16. Физическая стабильность составов MEDI0382 для исследования краткосрочной стабильности

| Консервант | [консервант]% | [пептид] мг/мл | Скорость потери чистоты/месяц (%) | |
|---------------------|---------------|----------------|-----------------------------------|-----|
| | | | 5C | 25C |
| Жидкий фенол | 0,35 | 1 | 0,17 | 2,2 |
| | 0,35 | | 0,17 | 2,4 |
| | 0,55 | | 0,21 | 2,2 |
| Твердый фенол | 0,35 | 1 | 0,17 | 2,2 |
| | 0,45 | | 0,17 | 2,6 |
| | 0,55 | | 0,21 | 2,2 |
| м-Крезол (SIGMA) | 0,2 | 1 | 0,17 | 3,0 |
| | 0,25 | | 0,42 | 2,9 |
| | 0,3 | | 0,50 | 2,6 |
| м-Крезол (HEDINGER) | 0,2 | 1 | 0,18 | 2,0 |
| | 0,25 | | 0,16 | 2,0 |
| | 0,3 | | 0,16 | 2,0 |
| Твердый фенол | 0,35 | 2 | 0,21 | 2,1 |
| | 0,45 | | 0,21 | 2,1 |
| | 0,55 | | 0,21 | 2,1 |

[0184] В анализах эффективности консервантов проводили короткое исследование, в ходе которого были использованы два микроорганизма для оценки микробной эффективности приготовленных составов (*Staphylococcus aureus* и *E.coli*). Образцы испытывали при t = 0 (основной объем) и t = 1 месяц после хранения при 25°C.

Результаты этих анализов показаны в таблице 17 ниже.

Таблица 17. Оценка PET составов MEDI0382 для исследования краткосрочной стабильности

| <u>Консервант</u> | <u>Фактический [пептид] (мг/мл)</u> | <u>Фактический (%вес/об.)</u> | <u>S.A.</u> | <u>E. coli</u> |
|-------------------|-------------------------------------|-------------------------------|-------------|----------------|
| | | | | |

| | | | <u>T0</u> | <u>1 месяц,</u> <u>25°C</u> | <u>T0</u> | <u>T 1</u> <u>месяц,</u> <u>25°C</u> |
|------------------------|------|------|------------|--------------------------------|-----------|--|
| Жидкий фенол | 1,04 | 0,38 | Безуспешно | Безуспешно | В | В |
| | 1,01 | 0,45 | В | В | А | А |
| | 1,07 | 0,56 | В | В | А | А |
| Твердый фенол | 1,11 | 0,35 | Безуспешно | Безуспешно | В | В |
| | 1,07 | 0,44 | В | В | А | А |
| | 1,13 | 0,57 | В | В | А | А |
| Твердый фенол | 2,14 | 0,38 | Безуспешно | Безуспешно | В | В |
| | 1,70 | 0,43 | Безуспешно | Безуспешно | В | В |
| | 2,00 | 0,54 | В | В | А | А |
| м-Крезол (sigma) | 1,13 | 0,22 | Безуспешно | Безуспешно | В | В |
| | 0,96 | 0,28 | В | В | А | А |
| | 1,01 | 0,30 | В | В | А | А |
| м-Крезол (Hedinger) | 1,04 | 0,22 | В | В | А | А |
| | 1,01 | 0,25 | В | В | А | А |
| | 1,05 | 0,31 | А | А | А | А |

[0185] Что касается стабильности, эти исследования продемонстрировали, что концентрация любого консерванта не оказывала значительного влияния на химическую или физическую стабильность пептида в исследуемых диапазонах. Кроме того, концентрация пептида (1 или 2 мг/мл) не влияла на скорость разрушения, когда твердый фенол использовали в качестве консерванта. Тип консерванта действительно оказал некоторое влияние на скорость химического разрушения MEDI0382. м-Крезол Hedinger, по-видимому, замедляет скорость химического разрушения по сравнению со скоростью, наблюдаемой при использовании м-крезола Sigma.

[0186] Что касается противомикробной активности, эти исследования продемонстрировали, что все исследованные консерванты соответствовали менее строгим европейским («В») критериям - самые высокие исследованные концентрации. Однако м-крезол Hedinger соответствовал более строгим европейским («А») критериям, когда использовалась самая высокая концентрация. Для достижения менее строгих европейских («В») критериев необходимо по меньшей мере 0,44% вес/об. фенола с 1 мг/мл MEDI0382 или по меньшей мере 0,54% вес/об. фенола с MEDI0382 2 мг/мл. Ни один из составов, содержащих фенол в концентрации до 0,56% вес/об., не соответствовал более строгим

европейским критериям («А»). Эффективность консерванта сохранялась после 1 месяца хранения при 25°C.

[0187] Основываясь на этих результатах, состав 3 (220 мМ сорбит, 20 мМ фосфат натрия, 1 мг/мл MEDI0382, 0,3% масс./об. мета-крезола и NaOH для доведения pH до 8,1) оказался наиболее подходящим составом.

Пример 18. Выбор концентрации мета-крезола

[0188] Дополнительные эксперименты были выполнены для определения оптимальной концентрации мета-крезола для использования в составе на основе состава 3 в примере 17 выше. Как показано в таблице 18, концентрация м-крезола варьировала в составе 3, и была исследована микробная эффективность против *Staphylococcus aureus* и других бактерий.

Таблица 18. Влияние концентрации м-крезола на микробную эффективность

| мета-Крезол (вес/об. %) | Соответствие Ph. Eug. | Log снижение <i>S. aureus</i> через 6 часов | Log снижение <i>S. aureus</i> через 24 часа |
|-------------------------|---|---|---|
| 0 | | < 0,1 | 1,0 |
| 0,17 | Безуспешно для <i>S. aureus</i> только на Ph. Европейский критерий В, другие бактерии соответствуют Ph. Eug. критерию В | 0,2 | 0,3 |
| 0,24 | Безуспешно для <i>S. aureus</i> только на Ph. Европейский критерий В, другие бактерии соответствуют Ph. Eug. критерию А | 0,2 | 0,3 |
| 0,27 | Соответствие критерию В для <i>S. aureus</i> , другие бактерии соответствуют Ph. Eug. критерию А | 1,0 | 3,0 |

| | | | |
|------|--|------|-------|
| 0,28 | Соответствие критерию В для <i>S. aureus</i> , другие бактерии соответствуют Ph. Eur. критерию А | 1,0 | 2,4 |
| 0,34 | Соответствие Ph. Eur. критерию А | 2,1 | >5,1 |
| 0,42 | Соответствие Ph. Eur. критерию А | >5,1 | > 5,1 |

[0189] Кроме того, были проведены дополнительные исследования при целевой концентрации м-крезола 0,31% вес/об. для оценки вариабельности анализа. Эти исследования кратко изложены в таблице 19.

Таблица 19. Вариабельность анализа микробной активности

| мета-Крезол (вес/об. %) | Конц. MEDI0382 (мг/мл) | Соответствие Ph. Eur. | Log снижение у <i>S. aureus</i> через 6 часов | Log снижение у <i>S. aureus</i> через 24 часа |
|-------------------------|------------------------|--|---|---|
| 0,30 | 0,9 | Соответствие Ph. Eur. критерию А | 2,2 | 5,1 |
| 0,29 | 0,9 | Соответствие Ph. Eur. критерию А | 2,4 | >5,1 |
| 0,31 | 0,9 | Соответствие критерию В для <i>S. aureus</i> , другие бактерии соответствуют Ph. Eur. критерию А | 1,7 | >5,1 |
| 0,30 | 1 | Соответствие критерию В для <i>S. aureus</i> , другие бактерии соответствуют Ph. Eur. критерию А | 0,4 | > 4,9 |
| 0,33 | 1 | Соответствие критерию В для <i>S. aureus</i> , другие бактерии соответствуют Ph. Eur. критерию А | 1,9 | > 4,9 |

| | | | | |
|------|---|--|-----|-------|
| 0,29 | 1 | Соответствие критерию В для <i>S. aureus</i> , другие бактерии соответствуют Ph. Eur. критерию А | 1,4 | > 4,9 |
|------|---|--|-----|-------|

[0190] Эти результаты демонстрируют, что эффективность консерванта зависит от концентрации MEDI0382 и демонстрирует некоторую вариабельность. Кроме того, чтобы постоянно достигать Евр. критерий В, требуется минимум 0,27% (вес/об.) мета-крезола, а для достижения Ph. евро. критерия А, требуется минимум 0,34 % (вес/об.) мета-крезола.

[0191] Принимая это во внимание, концентрация м-крезола 0,31% вес/об. (+/- 10%) представляется благоприятной. Эта концентрация показывает соответствующий период отсутствия эффективности для препарата, принимаемого один раз в день, снижая количество бактерий на 3 log через 24 часа.

[0192] Рецепт получения очень высоко преимущественного препарата, содержащего 220 мМ сорбит, 20 мМ фосфат натрия, 0,31% (вес/об.) мета-крезола и NaOH для доведения pH до 8,1, показан в таблице 20. Препарат с 1 мг MEDI0382 представляет собой продукт с титрационной дозой, а препарат с 5 мг MEDI0382 является препаратом с поддерживающей дозой.

Таблица 20. Рецепттура состава MEDI0382

| Описание пункта | Количество на мл | Концентрация мМ |
|---|---------------------------------|-----------------|
| MEDI0382 | 1 мг, 2 мг или 5 мг | |
| Одноосновный моногидрат фосфата натрия | 0,13 мг | 1,0 |
| Двухосновный гептагидрат фосфата натрия | 5,12 мг | 19,0 |
| Сорбит | 40,13 мг | 220,3 |
| мета-Крезол | 3,10 мг | 28,6 |
| Гидроксид натрия - для инъекции | в достаточном количестве pH 8,1 | |
| Вода для инъекции (WFI) | 966,5 мг | |

Пример 19. Влияние концентрации фосфата натрия и типа соли на высокомолекулярные примеси

[0193] Ковалентные димеры были идентифицированы как примеси в многодозовых составах MEDI0382. Поэтому было исследовано влияние фосфата натрия на образование высокомолекулярных примесей (HWM) на MEDI0382.

[0194] Составы, содержащие 0,31% м-крезола (вес/об.), 220 мМ сорбит и MEDI0382 (1 мг/мл), были получены с различными количествами (от 0 до 20 мМ) одноосновной и двухосновной соли фосфата натрия, только двухосновной соли и только моноосновной соли. Образцы помещали при 5°C и 25°C и анализировали в отношении стабильности способами SEC, RP UPLC и LC-MS. Результаты, показанные на фиг. 14А, 14В и 14С, демонстрируют, что концентрация фосфата натрия оказывает значительное влияние на уровни содержания НМВ примесей при исследованных температурах. Идентификация примесей LC-MS показывает, что состав без фосфата натрия снижает содержание основных НМВ примесей, обнаруженных в составе.

[0195] Эти данные показывают, что более низкие концентрации фосфата натрия улучшают стабильность. Поэтому был разработан альтернативный препарат MEDI0382 с меньшим содержанием соли, а также альтернативный препарат с низкой концентрацией основания TRIS (триметамин) в качестве замены фосфата натрия. Рецептуры альтернативных составов показаны в следующих таблицах 21-25.

Таблица 21. Рецепт альтернативного состава MEDI0382 1

| Описание пункта | Количество на мл | Концентрация мМ |
|---|---------------------------------|-----------------|
| MEDI0382 | 1, 2 или 5 мг | |
| Двухосновный гептагидрат фосфата натрия | 2,68 мг | 10 |
| Сорбит | 40,13 мг | 220,3 |
| м-Крезол | 3,10 мг | 28,6 |
| WFI | 966,52 | |
| Гидроксид натрия | в достаточном количестве рН 8,1 | |

Таблица 22. Рецепт альтернативного состава 2 MEDI0382

| Описание пункта | Количество на мл | Концентрация мМ |
|-----------------|------------------|-----------------|
|-----------------|------------------|-----------------|

| | | |
|---|---------------------------------|-------|
| MEDI0382 | 1 мг или 5 мг | |
| Одноосновный моногидрат фосфата натрия | 0,06 мг | 0,5 |
| Двухосновный гептагидрат фосфата натрия | 2,56 мг | 9 |
| Сорбит | 40,13 мг | 220,3 |
| мета-Крезол | 3,10 мг | 28,6 |
| Гидроксид натрия - для инъекции | в достаточном количестве рН 8,1 | |
| Вода для инъекции (WFI) | 966,5 мг | |

Таблица 23. Рецептaра альтернативного состава 3 MEDI0382

| Описание пункта | Количество на мл | Концентрация мМ |
|---|---------------------------------|-----------------|
| MEDI0382 | 1 мг, 5 мг | |
| Двухосновный гептагидрат фосфата натрия | 1,34 мг | 5 |
| Сорбит | 40,13 мг | 220,3 |
| м-Крезол | 3,10 мг | 28,6 |
| WFI | 966,52 | |
| Гидроксид натрия | в достаточном количестве рН 8,1 | |

Таблица 24. Рецептaра альтернативного состава 4 MEDI0382

| Описание пункта | Количество на мл | Концентрация мМ |
|-----------------------------|---------------------------------|-----------------|
| MEDI0382 | 5 мг | |
| Основание TRIS (тpометамин) | 1,21 мг | 10 |
| Сорбит | 40,13 мг | 220,3 |
| м-Крезол | 3,10 мг | 28,6 |
| WFI | в достаточном количестве 1 мл | |
| Гидроксид натрия | в достаточном количестве рН 8,1 | |

Таблица 25. Рецептaра альтернативного состава 5 MEDI0382

| Описание пункта | Количество на мл | Концентрация мМ |
|-----------------------------|---------------------------------|-----------------|
| MEDI0382 | 1 мг | |
| Основание TRIS (триметамин) | 1,21 мг | 10 |
| Сорбит | 40,13 мг | 220,3 |
| м-Крезол | 3,10 мг | 28,6 |
| WFI | в достаточном количестве 1 мл | |
| Соляная кислота | в достаточном количестве pH 8,1 | |

[0196] Исследование стабильности, сравнивающее основание TRIS с двухосновным фосфатом натрия при концентрациях 1 и 5 мг/мл MEDI0382 (составы 4 и 5 по сравнению с составом 1), проводили в стеклянных флаконах. Данные SEC показывают, что замена двухосновного фосфата натрия на основание TRIS позволяет снизить уровень HMW примесей (фиг. 15 и таблица 26).

Таблица 26. Влияние типа буфера на уровни HMW примесей при 2-8°C и 25°C (результаты SEC)

| Композиция состава | Всего ВМТ примеси (%) | | |
|--|-----------------------|-------------------------|--------------------------|
| | T0 | Через 1 месяц при 2-8°C | Через 6 месяцев при 25°C |
| 1 мг/мл MEDI0382, 10 мМ основание TRIS, 220 мМ сорбит, 0,31% м-крезола, pH 8,1 | 0,1 | 0,2 | 5,9 |
| 5 мг/мл MEDI0382, 10 мМ основание TRIS, 220 мМ сорбит, 0,31% м-крезола, pH 8,1 | 0,1 | 0,1 | 2,3 |
| 1 мг/мл MEDI0382, 10 мМ двухосновный фосфат натрия, 220 мМ сорбит, 0,31% м-крезола, pH 8,1 | 0,1 | 0,4 | 9,4 |
| 5 мг/мл MEDI0382, 10 мМ двухосновный фосфат натрия, 220 мМ сорбит, 0,31% м-крезола, pH 8,1 | 0,1 | 0,2 | 2,7 |

Пример 20. Влияние концентрации 5 мг/мл MEDI0382

[0197] Композиции MEDI0382 с концентрацией 1, 2 и 5 мг/мл, описанные в таблице 20, были исследованы в отношении HMW частиц и общие примеси с использованием способов, в основном таких, как описано выше. Результаты показаны на фиг. 16А и на

фиг. 16В. Не было значительной разницы в количестве НМВ частиц или всего примесей между составами 1 и 2 мг/мл. Однако в составах с концентрацией 5 мг/мл содержание НМВ и общее количество примесей были стабильно ниже.

[0198] Стабильность трех составов также измеряли по содержанию пептидов и м-крезола в течение 30 дней. Результаты представлены в таблицах 27-34.

Таблица 27. Влияние MEDI0382 на содержание пептидов

| Содержание пептидов - стабильность при 40°C (D) мг/мл | | | | | |
|---|--------|--------|---------|---------|---------|
| | 0 дней | 7 дней | 14 дней | 21 день | 30 дней |
| 1 мг/мл | 1,02 | 1,00 | 0,99 | 0,96 | 1,00 |
| 2 мг/мл | 1,96 | 1,95 | 1,92 | 1,88 | 2,00 |
| 5 мг/мл | 5,07 | 5,04 | 4,98 | 4,92 | 4,96 |

Таблица 28. Влияние MEDI0382 на содержание м-крезола

| Содержание м-крезола – стабильность при 40°C (D) вес/об. | | | | | | |
|--|--|--------|--------|---------|---------|---------|
| | Составленный нерасфасованный раствор (FBS) | 0 дней | 7 дней | 14 дней | 21 день | 30 дней |
| 1 мг/мл | 0,30 | 0,29 | 0,30 | 0,29 | 0,29 | 0,29 |
| 2 мг/мл | 0,30 | 0,29 | 0,30 | 0,28 | 0,28 | 0,29 |
| 5 мг/мл | 0,30 | 0,29 | 0,31 | 0,28 | 0,28 | 0,29 |

Таблица 29. Содержание MEDI0382 с течением времени при 40°C

| Содержание пептида (мг/мл) – стабильность при 40°C | | | | | |
|--|--------|--------|---------|---------|---------|
| | 0 дней | 7 дней | 14 дней | 21 день | 30 дней |
| 1 мг/мл | 1,02 | 1,00 | 0,99 | 0,96 | 1,00 |
| 5 мг/мл | 5,07 | 5,04 | 4,98 | 4,92 | 4,96 |

Таблица 30. Содержание MEDI0382 с течением времени при 25°C

| Содержание пептида (мг/мл) – стабильность при 25°C | | | | |
|--|-----------|---------|----------|-----------|
| | 0 месяцев | 1 месяц | 3 месяца | 6 месяцев |
| | | | | |

| | | | | |
|---------|------|------|------|------|
| 1 мг/мл | 1,02 | 1,01 | 1,01 | 1,01 |
| 5 мг/мл | 5,07 | 4,94 | 4,98 | 4,98 |

Таблица 31. Содержание MEDI0382 с течением времени при 5°C

| Содержание пептида (мг/мл) – стабильность при 5°C | | | | | | |
|---|-----------|---------|----------|-----------|-----------|------------|
| | 0 месяцев | 1 месяц | 3 месяца | 6 месяцев | 9 месяцев | 12 месяцев |
| 1 мг/мл | 1,02 | 1,02 | 1,02 | 1,02 | 1,04 | 1,02 |
| 5 мг/мл | 5,07 | 4,92 | 5,01 | 5,06 | 4,90 | 5,16 |

Таблица 32. Содержание м-крезола с течением времени при 40°C

| Содержание м-крезола (% вес/об.) – стабильность при 40°C | | | | | |
|--|--------|--------|---------|---------|---------|
| | 0 дней | 7 дней | 14 дней | 21 день | 30 дней |
| 1 мг/мл | 0,29 | 0,30 | 0,29 | 0,29 | 0,29 |
| 5 мг/мл | 0,29 | 0,31 | 0,28 | 0,28 | 0,29 |

Таблица 33. Содержание м-крезола с течением времени при 25°C

| Содержание м-крезола (% вес/об.) – стабильность при 25°C | | | | |
|--|-----------|---------|----------|-----------|
| | 0 месяцев | 1 месяц | 3 месяца | 6 месяцев |
| 1 мг/мл | 0,29 | 0,29 | 0,29 | 0,28 |
| 5 мг/мл | 0,28 | 0,29 | 0,29 | 0,28 |

Таблица 34. Содержание м-крезола с течением времени при 5°C

| Содержание м-крезола (% вес/об.) – стабильность при 5°C | | | | | | |
|---|-----------|---------|----------|-----------|-----------|------------|
| | 0 месяцев | 1 месяц | 3 месяца | 6 месяцев | 9 месяцев | 12 месяцев |
| 1 мг/мл | 0,29 | 0,29 | 0,29 | 0,29 | 0,29 | 0,28 |
| 5 мг/мл | 0,28 | 0,29 | 0,29 | 0,29 | 0,29 | 0,28 |

[0199] Эти данные демонстрируют, что по сравнению с исходной точкой не было значительных различий в трех составах в отношении содержания пептида или м-крезола.

[0200] Составы также оценивали в отношении наличия частиц с положительной фибрилляцией с помощью сортировки клеток с активированием флуоресценции (FACS) в присутствии красителя ThT (см. фиг. 17) и просвечивающей электронной микроскопии (ТЕМ) (фиг. 18). Сравнение образцов с концентрацией 1 и 5 мг/мл с предварительно сформированными фибриллами (положительный контроль), а также с буфером для состава (отрицательный контроль) показывает, что никакие частицы с положительной фибрилляцией не могут быть обнаружены в любой момент времени и при любых испытанных условиях.

[0201] Исследование эффективности консерванта (РЕТ) также проводили на препаратах MEDI0382 с концентрацией 2 и 5 мг/мл, содержащих 20 мМ натрий-фосфатный буфер, 220 мМ сорбит и м-крезол (в концентрациях, указанных в таблице 35) при рН 8,2.

Таблица 35. Результаты РЕТ

| Организм | MEDI0382 (мг/мл) | м-Крезол (% вес/об.) | Результаты (EU) |
|------------------|-------------------------|---------------------------------|------------------------|
| <i>S. aureus</i> | 2,0 | 0,28 | Соответствие В |
| <i>S. aureus</i> | 2,0 | 0,31 | Соответствие В |
| <i>S. aureus</i> | 2,0 | 0,34 | Соответствие В |
| <i>S. aureus</i> | 5,0 | 0,28 | Соответствие В |
| <i>S. aureus</i> | 5,0 | 0,31 | Соответствие В |
| <i>S. aureus</i> | 5,0 | 0,34 | Соответствие А |

[0202] Из технико-экономического обоснования РЕТ все концентрации 2 и 5 мг/мл MEDI0382 с 0,28-0,34% м-крезола соответствовали европейским («В») критериям для *Staphylococcus aureus*.

Пример 21. Влияние концентрации MEDI0382 (1 по сравнению с 5 мг/мл) на стабильность препарата на основе двухосновного натрия

[0203] Стабильность составов MEDI0382 с концентрацией 1 и 5 мг/мл, как описано в таблице 21 (альтернативный состав 1 MEDI0382), оценивали с помощью определения HMW частиц и общего количества примесей, используя описанные выше методы. Результаты показаны на фиг. 19 и на фиг. 20. Было отмечено заметное снижение общего количества примесей и HMW примесей для состава 5 мг/мл по сравнению с составом 1 мг/мл, причем эффект был более выражен в случае HMW примесей.

[0204] Стабильность двух составов также оценивали по содержанию пептидов и м-крезола в течение 30 дней при 5, 25 и 40°C. Результаты для содержания пептида показаны в таблицах 36-38, а для содержания м-крезола в таблицах 39-41.

Таблица 36. Содержание MEDI0382 с течением времени при 40°C

| Содержание пептида (мг/мл) – стабильность при 40°C | | | |
|--|--------|--------|---------|
| | 0 дней | 7 дней | 28 дней |
| 1 мг/мл | 1,00 | 0,99 | 0,99 |
| 5 мг/мл | 5,07 | 5,01 | 5,02 |

Таблица 37. Содержание MEDI0382 с течением времени при 25°C

| Содержание пептида (мг/мл) – стабильность при 25°C | | | | |
|--|-----------|---------|----------|-----------|
| | 0 месяцев | 1 месяц | 3 месяца | 6 месяцев |
| 1 мг/мл | 1,00 | 1,00 | 0,98 | 0,99 |
| 5 мг/мл | 5,07 | 5,10 | 4,95 | 5,09 |

Таблица 38. Содержание MEDI0382 с течением времени при 5°C

| Содержание пептида (мг/мл) – стабильность при 5°C | | | | |
|---|-----------|----------|-----------|-----------|
| | 0 месяцев | 3 месяца | 6 месяцев | 9 месяцев |
| 1 мг/мл | 1,00 | 0,99 | 1,01 | 0,99 |
| 5 мг/мл | 5,07 | 5,01 | 5,11 | 4,88 |

Таблица 39. Содержание м-крезола с течением времени при 40°C

| Содержание м-кресола (% вес/об.) – стабильность при 40°C | | | |
|--|--------|--------|---------|
| | 0 дней | 7 дней | 28 дней |
| 1 мг/мл | 0,31 | 0,31 | 0,30 |
| 5 мг/мл | 0,31 | 0,31 | 0,30 |

Таблица 40. Содержание м-кресола с течением времени при 25°C

| Содержание м-кресола (% вес/об.) – стабильность при 25°C | | | | |
|--|-----------|---------|----------|-----------|
| | 0 месяцев | 1 месяц | 3 месяца | 6 месяцев |
| 1 мг/мл | 0,31 | 0,30 | 0,30 | 0,30 |
| 5 мг/мл | 0,31 | 0,30 | 0,30 | 0,30 |

Таблица 41. Содержание м-кресола с течением времени при 5°C

| Содержание м-кресола (% вес/об.) – стабильность при 5°C | | | | |
|---|-----------|----------|-----------|-----------|
| | 0 месяцев | 3 месяца | 6 месяцев | 9 месяцев |
| 1 мг/мл | 0,31 | 0,30 | 0,30 | 0,28 |
| 5 мг/мл | 0,31 | 0,30 | 0,30 | 0,29 |

[0205] Эти данные предполагают, что по сравнению с исходной точкой не было значительных колебаний содержания пептида или м-кресола с течением времени для составов как 1, так и 5 мг/мл.

[0206] Составы также оценивали в отношении наличия положительных частиц по фибрилляции с помощью FACS (см. фиг. 21) и просвечивающей электронной микроскопии (ТЕМ) (фиг. 22). Сравнение образцов 1 и 5 мг/мл с предварительно сформированными фибриллами (положительный контроль), а также с буфером для состава (отрицательный контроль) показывает, что частицы с положительной фибрилляцией не могут быть обнаружены в любой момент времени или при любых исследуемых условиях.

Пример 22. Устойчивость эффективности консерванта многодозового состава MEDI0382 с концентрацией 5 мг/мл

[0207] Многофакторное исследование устойчивости было проведено для изучения влияния содержания м-крезола, концентрации фосфата натрия и содержания м-крезола на эффективность консерванта многодозового состава с концентрацией 5 мг/мл. Предыдущие исследования при 1, 2 и 5 мг/мл показали, что концентрация пептида имела отрицательную корреляцию с эффективностью консерванта, поэтому это исследование устойчивости проводили при установленной концентрации 5,5 мг/мл для всех составов. Всего было получено и испытано 20 нерасфасованных составов в соответствии с разделом 5.1.3 Европейской фармакопеи, издание 10.0, и Фармакопеей США 42 <51>.

[0208] Данные в таблице 42 показывают, что при концентрациях м-крезола 0,24% (вес/об.) и выше критерии А USP и EP последовательно удовлетворяются для всех микроорганизмов, кроме *Staphylococcus aureus*, для которых удовлетворяются критерии В. Для этого микроорганизма требуются концентрации м-крезола 0,28% (вес/об.) и выше для достижения логарифмического снижения, стабильно превышающего 3 за 24 часа. Статистический анализ данных показал, что м-крезол оказывает наибольшее влияние на эффективность консерванта, а рН и концентрация фосфата натрия имеют более мягкое влияние. Это исследование подтвердило, что многодозовый состав с высокой концентрацией обладает адекватными антимикробными свойствами для приема один раз в день.

Таблица 42. Результаты эффективности консерванта состава MEDI0382 высокой концентрации с несколькими дозами

| Композиция состава – 5,5 мг/мл MEDI0382, 220 мМ сорбит | | | Организм | Log снижение количества колониеобразующих единиц на мл образца | | | | |
|--|--|--|-------------------------------|---|---------|--------|------------|------------|
| рН | Концентрация фосфата натрия (мМ) | Содержание м-крезола (% вес/об.) | | 6 часов | 24 часа | 7 дней | 14 дней | 28 дней |
| 7,8 | 25 | 0,23 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | > 4,94 | > 4,94 | > 4,94 | > 4,94 | > 4,94 |
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | 0,48 | 0,89 | 3,48 | > 4,89 | > 4,89 |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | NT ¹ | Н. и. | > 4,98 | > 4,98 | > 4,98 |

| | | | | | | | | |
|-----|------|------|---------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | | <i>Aspergillus brasiliensis</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,85 | > 4,85 | > 4,85 |
| | | | <i>Candida albicans EP</i> | Н. и. | Н. и. | 1,81 | > 4,30 | > 4,30 |
| | | | <i>Candida albicans USP</i> | Н. и. | Н. и. | 1,81 | > 4,30 | > 4,30 |
| 7,8 | 17,5 | 0,23 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | > 4,87 | > 4,87 | > 4,87 | > 4,87 | > 4,87 |
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | 0,27 | 0,97 | > 4,87 | > 4,87 | > 4,87 |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,76 | > 4,76 | > 4,76 |
| | | | <i>Aspergillus brasiliensis</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,53 | > 4,53 | > 4,53 |
| | | | <i>Candida albicans EP</i> | Н. и. | Н. и. | 2,14 | > 4,40 | > 4,40 |
| | | | <i>Candida albicans USP</i> | Н. и. | Н. и. | 2,14 | > 4,40 | > 4,40 |
| 8,4 | 10 | 0,23 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | > 4,79 | > 4,79 | > 4,79 | > 4,79 | > 4,79 |
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | 0,32 | 0,80 | > 4,88 | > 4,88 | > 4,88 |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,70 | > 4,70 | > 4,70 |
| | | | <i>Aspergillus brasiliensis</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,59 | > 4,59 | > 4,59 |
| | | | <i>Candida albicans EP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,51 | > 4,51 | > 4,51 |
| | | | <i>Candida albicans USP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,51 | > 4,51 | > 4,51 |
| 8,4 | 25 | 0,24 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | > 4,72 | > 4,72 | > 4,72 | > 4,72 | > 4,72 |
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | 1,41 | > 4,64 | > 4,64 | > 4,64 | > 4,64 |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,59 | > 4,59 | > 4,59 |
| | | | <i>Aspergillus brasiliensis</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,41 | > 4,41 | > 4,41 |
| | | | <i>Candida albicans EP</i> | Н. и. | Н. и. | 3,93 | > 4,23 | > 4,23 |
| | | | <i>Candida albicans USP</i> | Н. и. | Н. и. | 2,95 | > 4,23 | > 4,23 |
| 8,4 | 25 | 0,24 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | > 4,72 | > 4,72 | > 4,72 | > 4,72 | > 4,72 |
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | 1,32 | > 4,64 | > 4,64 | > 4,64 | > 4,64 |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,59 | > 4,59 | > 4,59 |
| | | | <i>Aspergillus brasiliensis</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,41 | > 4,41 | > 4,41 |
| | | | <i>Candida albicans EP</i> | Н. и. | Н. и. | 3,39 | > 4,23 | > 4,23 |
| | | | <i>Candida albicans USP</i> | Н. и. | Н. и. | 2,63 | > 4,23 | > 4,23 |

| | | | | | | | | |
|-----|------|------|---------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 8,1 | 10 | 0,24 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | > 4,72 | > 4,72 | > 4,72 | > 4,72 | > 4,72 |
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | 0,76 | 2,89 | > 4,64 | > 4,64 | > 4,64 |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,59 | > 4,59 | > 4,59 |
| | | | <i>Aspergillus brasiliensis</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,41 | > 4,41 | > 4,41 |
| | | | <i>Candida albicans EP</i> | Н. и. | Н. и. | 2,55 | > 4,23 | > 4,23 |
| | | | <i>Candida albicans USP</i> | Н. и. | Н. и. | 2,00 | > 4,23 | > 4,23 |
| 8,1 | 15 | 0,26 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | > 4,79 | > 4,79 | > 4,79 | > 4,79 | > 4,79 |
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | 0,30 | 1,52 | > 4,88 | > 4,88 | > 4,88 |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,70 | > 4,70 | > 4,70 |
| | | | <i>Aspergillus brasiliensis</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,59 | > 4,59 | > 4,59 |
| | | | <i>Candida albicans EP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,51 | > 4,51 | > 4,51 |
| | | | <i>Candida albicans USP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,51 | > 4,51 | > 4,51 |
| 8,1 | 20 | 0,26 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | > 4,79 | > 4,79 | > 4,79 | > 4,79 | > 4,79 |
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | 0,34 | 1,58 | > 4,88 | > 4,88 | > 4,88 |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,70 | > 4,70 | > 4,70 |
| | | | <i>Aspergillus brasiliensis</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,59 | > 4,59 | > 4,59 |
| | | | <i>Candida albicans EP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,51 | > 4,51 | > 4,51 |
| | | | <i>Candida albicans USP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,51 | > 4,51 | > 4,51 |
| 7,8 | 10 | 0,27 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | > 4,94 | > 4,94 | > 4,94 | > 4,94 | > 4,94 |
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | 0,75 | 1,09 | > 4,89 | > 4,89 | > 4,89 |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,98 | > 4,98 | > 4,98 |
| | | | <i>Aspergillus brasiliensis</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,85 | > 4,85 | > 4,85 |
| | | | <i>Candida albicans EP</i> | Н. и. | Н. и. | 2,47 | > 4,30 | > 4,30 |
| | | | <i>Candida albicans USP</i> | Н. и. | Н. и. | 2,47 | > 4,30 | > 4,30 |
| 8,1 | 17,5 | 0,27 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | > 4,87 | > 4,87 | > 4,87 | > 4,87 | > 4,87 |
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | 1,31 | 3,27 | > 4,87 | > 4,87 | > 4,87 |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,76 | > 4,76 | > 4,76 |

| | | | | | | | | |
|-----|------|------|---------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | | <i>Aspergillus brasiliensis</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,53 | > 4,53 | > 4,53 |
| | | | <i>Candida albicans EP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,40 | > 4,40 | > 4,40 |
| | | | <i>Candida albicans USP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,40 | > 4,40 | > 4,40 |
| 8,2 | 17,5 | 0,28 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | > 5,04 | > 5,04 | > 5,04 | > 5,04 | > 5,04 |
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | 3,03 | > 4,89 | > 4,89 | > 4,89 | > 4,89 |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,97 | > 4,97 | > 4,97 |
| | | | <i>Aspergillus brasiliensis</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,59 | > 4,59 | > 4,59 |
| | | | <i>Candida albicans EP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,20 | > 4,20 | > 4,20 |
| | | | <i>Candida albicans USP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,20 | > 4,20 | > 4,20 |
| 7,8 | 25 | 0,28 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | > 5,04 | > 5,04 | > 5,04 | > 5,04 | > 5,04 |
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | 2,03 | 3,94 | > 4,89 | > 4,89 | > 4,89 |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,97 | > 4,97 | > 4,97 |
| | | | <i>Aspergillus brasiliensis</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,59 | > 4,59 | > 4,59 |
| | | | <i>Candida albicans EP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,20 | > 4,20 | > 4,20 |
| | | | <i>Candida albicans USP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,20 | > 4,20 | > 4,20 |
| 8,4 | 10 | 0,28 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | > 5,04 | > 5,04 | > 5,04 | > 5,04 | > 5,04 |
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | 2,92 | > 4,89 | > 4,89 | > 4,89 | > 4,89 |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,97 | > 4,97 | > 4,97 |
| | | | <i>Aspergillus brasiliensis</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,59 | > 4,59 | > 4,59 |
| | | | <i>Candida albicans EP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,20 | > 4,20 | > 4,20 |
| | | | <i>Candida albicans USP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,20 | > 4,20 | > 4,20 |
| 8,1 | 25 | 0,31 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | > 5,04 | > 5,04 | > 5,04 | > 5,04 | > 5,04 |
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | 4,72 | > 4,89 | > 4,89 | > 4,89 | > 4,89 |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,97 | > 4,97 | > 4,97 |
| | | | <i>Aspergillus brasiliensis</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,59 | > 4,59 | > 4,59 |
| | | | <i>Candida albicans EP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,20 | > 4,20 | > 4,20 |
| | | | <i>Candida albicans USP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,20 | > 4,20 | > 4,20 |

| | | | | | | | | |
|-----|------|------|---------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 7,8 | 25 | 0,31 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | > 4,87 | > 4,87 | > 4,87 | > 4,87 | > 4,87 |
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | 2,11 | > 4,87 | > 4,87 | > 4,87 | > 4,87 |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,76 | > 4,76 | > 4,76 |
| | | | <i>Aspergillus brasiliensis</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,53 | > 4,53 | > 4,53 |
| | | | <i>Candida albicans EP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,40 | > 4,40 | > 4,40 |
| | | | <i>Candida albicans USP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,40 | > 4,40 | > 4,40 |
| 8,4 | 25 | 0,31 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | > 4,79 | > 4,79 | > 4,79 | > 4,79 | > 4,79 |
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | 0,88 | > 4,88 | > 4,88 | > 4,88 | > 4,88 |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,70 | > 4,70 | > 4,70 |
| | | | <i>Aspergillus brasiliensis</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,59 | > 4,59 | > 4,59 |
| | | | <i>Candida albicans EP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,51 | > 4,51 | > 4,51 |
| | | | <i>Candida albicans USP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,51 | > 4,51 | > 4,51 |
| 7,8 | 10 | 0,32 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | > 4,94 | > 4,94 | > 4,94 | > 4,94 | > 4,94 |
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | 2,93 | > 4,89 | > 4,89 | > 4,89 | > 4,89 |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,98 | > 4,98 | > 4,98 |
| | | | <i>Aspergillus brasiliensis</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,85 | > 4,85 | > 4,85 |
| | | | <i>Candida albicans EP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,30 | > 4,30 | > 4,30 |
| | | | <i>Candida albicans USP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,30 | > 4,30 | > 4,30 |
| 8,4 | 17,5 | 0,32 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | > 4,94 | > 4,94 | > 4,94 | > 4,94 | > 4,94 |
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | 3,85 | > 4,89 | > 4,89 | > 4,89 | > 4,89 |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,98 | > 4,98 | > 4,98 |
| | | | <i>Aspergillus brasiliensis</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,85 | > 4,85 | > 4,85 |
| | | | <i>Candida albicans EP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,30 | > 4,30 | > 4,30 |
| | | | <i>Candida albicans USP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,30 | > 4,30 | > 4,30 |
| 7,8 | 10 | 0,33 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | > 4,72 | > 4,72 | > 4,72 | > 4,72 | > 4,72 |
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | > 4,64 | > 4,64 | > 4,64 | > 4,64 | > 4,64 |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,59 | > 4,59 | > 4,59 |

| | | | | | | | | |
|-----|----|------|---------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | | <i>Aspergillus brasiliensis</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,41 | > 4,41 | > 4,41 |
| | | | <i>Candida albicans EP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,23 | > 4,23 | > 4,23 |
| | | | <i>Candida albicans USP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,23 | > 4,23 | > 4,23 |
| 8,4 | 10 | 0,34 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | > 4,87 | > 4,87 | > 4,87 | > 4,87 | > 4,87 |
| | | | <i>Staphylococcus aureus</i> | 2,51 | > 4,87 | > 4,87 | > 4,87 | > 4,87 |
| | | | <i>Escherichia coli</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,76 | > 4,76 | > 4,76 |
| | | | <i>Aspergillus brasiliensis</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,53 | > 4,53 | > 4,53 |
| | | | <i>Candida albicans EP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,40 | > 4,40 | > 4,40 |
| | | | <i>Candida albicans USP</i> | Н. и. | Н. и. | > 4,40 | > 4,40 | > 4,40 |

¹NT = не исследовали

Пример 23. Контроль растворенного кислорода в многодозовом лекарственном препарате для контроля НМВ агрегатов

[0210] Преимущественный состав представляет собой 20 мМ фосфат натрия, 220 мМ сорбит, 0,31% м-крезола, рН = 8,1. м-Крезол особенно применим для поддержки многодозового использования MEDI0382 в климатических условиях пациента. Чтобы соответствовать этому требованию, лекарственный препарат MEDI0382 должен демонстрировать достаточную (> 3 недель) стабильность при использовании (при 30°C) в дополнение к предлагаемым условиям длительного хранения (при 5°C). К концу 24 месяцев в условиях охлаждения и 4 недель при 30°C этот состав будет содержать ~5% НМВ примесей с использованием аналитического способа SEC.

[0211] Исследовательские исследования выявили возможность окисления с образованием НМВ примесей. Был рассмотрен способ составления смеси MEDI0382, который разработан для выполнения при нормальных атмосферных условиях. В нормальных атмосферных условиях около 20% кислорода вместе с другими компонентами находится в фазе газа. Этот высокий уровень концентрации кислорода потенциально взаимодействует с MEDI0382 и инициирует образование НМВ примесей. Стандартная отраслевая практика подчеркивает использование антиоксидантов, таких как метионин, для контроля окисления; однако использование метионина не контролировало образование НМВ примесей в составах MEDI0382.

[0212] Не существовало известного способа контроля окисления пептидов с несколькими дозами на стадии составления смеси. Поэтому был разработан способ составления смеси для многодозового пептидного состава путем уменьшения содержания растворенного кислорода с использованием нового способа. В этом способе используют сухой газообразный азот для замещения растворенного кислорода, присутствующего в многодозовом пептидном составе. Методика вытеснения кислорода включает следующие стадии.

Стадия 1. Получение многодозового буферного раствора с пониженным содержанием растворенного кислорода

Используя погружную азотную трубку, сухой азот продувается в буфер для многодозового состава в условиях устойчивого состояния в течение достаточного периода

времени (приблизительно 30 минут для 1 литра раствора), пока содержание растворенного кислорода не станет ниже 5% от атмосферного.

Стадия 2. Получение составленного лекарственного вещества

Пептид добавляли к буферному составу для нескольких доз с пониженным содержанием растворенного кислорода в закрытых условиях и хорошо перемешивали.

Стадия 3. Получение многодозового лекарственного препарата с пониженным содержанием растворенного кислорода

Раствор стерильно фильтруют и измеряют содержание растворенного кислорода. Если содержание растворенного кислорода превышает 5%, используют сухой азот для вытеснения избыточного растворенного кислорода.

[0213] Лекарственный препарат MEDI0382, полученный с использованием этого способа, был подвергнут исследованиям стабильности, и результаты были сравнены с MEDI0382, полученным в нормальных атмосферных условиях. Результаты показаны на фиг. 23 и в таблице 43. В результатах в таблице 43 сравнивали подобранную скорость (от 5% DO, 20% DO) с моделью Аррениуса. На графике Аррениуса используют Log (скорость) против 1/температура.

Таблица 43. Сравнение кинетики разрушения HMW (подобранная скорость/модель Аррениуса)

| Температура (°C) | 5% DO | 20% DO |
|------------------|-------|--------|
| 32 | 67% | 125% |
| 40 | 70% | 136% |

[0214] Во всех условиях исследования лекарственный препарат MEDI0382, изготовленный с применением способа с использованием 5% растворенного кислорода (DO), имел значительно более низкий уровень HMW примеси (%), чем лекарственный препарат, полученный в нормальных атмосферных условиях.

[0215] Результаты исследования сравнивали с предварительно разработанной моделью Аррениуса (разработанной с использованием DP из более раннего способа получения). Подбор Аррениуса, показанный на фиг. 24, подтверждает, что лекарственный препарат MEDI0382, полученный из способа с использованием растворенного кислорода, имеет статистически значимо более низкую скорость разрушения НМВ, чем лекарственный препарат, полученный в нормальных атмосферных условиях.

[0216] Эти исследования стабильности и ее анализа показывают, что уровни растворенного кислорода в буфере для нескольких доз можно контролировать на стадии составления смеси. Это минимизирует подверженность MEDI0382 окислению и обеспечит способ составления смеси, позволяющий стабильно производить лекарственный препарат с низким содержанием НМВ примесей. Лекарственный препарат, полученный в результате этого способа, имеет стабильность при использовании >4 недель.

* * *

[0217] Следует понимать, что для толкования формулы изобретения предназначен раздел подробное описание, а не реферат и не краткое описание. В разделах краткое описание и реферат могут быть изложены один или несколько, но не все предусмотренные изобретателем(-лями) иллюстративные варианты осуществления настоящего изобретения, и таким образом не предназначены для ограничения каким-либо образом настоящего изобретения и прилагаемой формулы изобретения.

[0218] Настоящее изобретение описано было выше с помощью функциональных структурных элементов, иллюстрирующих воплощение указанных функций и взаимосвязей между ними. Границы этих функциональных структурных элементов были определены в настоящем документе произвольно для удобства описания. Альтернативные границы могут быть определены при условии, что указанные функции и взаимосвязи между ними выполняются надлежащим образом.

[0219] Предшествующее описание конкретных вариантов осуществления настолько полно раскрывает общий характер настоящего изобретения, что другие, используя знания в пределах компетентности в данной области, могут легко модифицировать и/или

адаптировать для различных путей применения такие конкретные варианты осуществления без проведения лишних экспериментов, не отступая от общей идеи настоящего изобретения. Следовательно, такие адаптации и модификации предназначены находиться в пределах значения и диапазона эквивалентов раскрытых вариантов осуществления, основанных на идее и принципе, представленных в данном документе. Следует понимать, что формулировки или терминология в данном документе предназначены для целей описания, а не ограничения, вследствие этого терминологию или формулировки в настоящем описании квалифицированному специалисту следует интерпретировать в свете данных идей и принципов.

[0220] Широта и объем настоящего изобретения не должны ограничиваться ни одним из описанных выше иллюстративных вариантов осуществления, но должны определяться только в соответствии с нижеследующими пунктами формулы изобретения и их эквивалентами.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция, содержащая пептид, содержащий SEQ ID NO:4, где рН композиции составляет приблизительно 8,1.
2. Фармацевтическая композиция, содержащая пептид, содержащий SEQ ID NO:4, и сорбит.
3. Фармацевтическая композиция, содержащая пептид, содержащий SEQ ID NO:4, и мета-крезол.
4. Фармацевтическая композиция по п. 2 или п. 3, где рН композиции составляет по меньшей мере 7,9.
5. Фармацевтическая композиция по п. 2 или п. 3, где рН композиции составляет от приблизительно 7,9 до приблизительно 8,4, при этом необязательно рН композиции составляет приблизительно 8,1.
6. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-3, где композиция содержит средство, регулирующее рН.
7. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-3, где композиция содержит гидроксид натрия.
8. Фармацевтическая композиция по п. 2 или п. 3, где композиция содержит гидроксид натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы рН композиции составлял по меньшей мере 7,9.
9. Фармацевтическая композиция по п. 2 или п. 3, где композиция содержит гидроксид натрия в концентрации, достаточной для того, чтобы рН композиции составлял от приблизительно 7,9 до приблизительно 8,4, и необязательно - приблизительно 8,1.

10. Фармацевтическая композиция по любому из п. 1 или пп. 3-9, где композиция содержит средство, регулирующее тоничность.
11. Фармацевтическая композиция по п. 10, где средство, регулирующее тоничность, представляет собой сорбит, маннит или пропиленгликоль.
12. Фармацевтическая композиция по п. 2 или п. 11, где концентрация сорбита составляет от приблизительно 190 мМ до приблизительно 250 мМ.
13. Фармацевтическая композиция по п. 12, где концентрация сорбита составляет приблизительно 220 мМ, при этом необязательно концентрация составляет 220,3 мМ.
14. Фармацевтическая композиция по п. 2 или п. 11, где концентрация сорбита составляет от приблизительно 35 мг/мл до приблизительно 45 мг/мл.
15. Фармацевтическая композиция по п. 14, где концентрация сорбита составляет от приблизительно 40 мг/мл до приблизительно 41 мг/мл, при этом необязательно концентрация составляет 40,13 мг/мл.
16. Фармацевтическая композиция по любому из п. 1, п. 2 или пп. 4-14, где композиция содержит противомикробное средство, при этом необязательно противомикробное средство представляет собой мета-крезол или фенол.
17. Фармацевтическая композиция по п. 3 или п. 16, где концентрация мета-крезола составляет от приблизительно 0,27% вес/об. до приблизительно 0,45% вес/об., или где концентрация мета-крезола составляет от приблизительно 25 мМ до приблизительно 30 мМ.
18. Фармацевтическая композиция по п. 17, где концентрация мета-крезола составляет приблизительно 0,31% вес/об., или где концентрация мета-крезола составляет приблизительно 28,6 мМ.

19. Фармацевтическая композиция по п. 3 или п. 16, где концентрация мета-крезола составляет от приблизительно 2,7 мг/мл до приблизительно 4,5 мг/мл.
20. Фармацевтическая композиция по п. 3 или п. 19, где концентрация мета-крезола составляет приблизительно 3,1 мг/мл.
21. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-20, где композиция содержит буфер, при этом необязательно буфер представляет собой фосфат натрия или TRIS.
22. Фармацевтическая композиция по п. 21, где концентрация фосфата натрия составляет от приблизительно 5 мМ до приблизительно 25 мМ.
23. Фармацевтическая композиция по п. 22, где концентрация фосфата натрия составляет приблизительно 20 мМ, при этом необязательно концентрация составляет 20 мМ или 20,1 мМ.
24. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 21-23, где фосфат натрия включает моногидрат одноосновного фосфата натрия и гептагидрат двухосновного фосфата натрия.
25. Фармацевтическая композиция по п. 24, где концентрация моногидрата одноосновного фосфата натрия составляет приблизительно 1 мМ, и где концентрация гептагидрата двухосновного фосфата натрия составляет приблизительно 19 мМ, необязательно - 19 мМ или 19,1 мМ.
26. Фармацевтическая композиция по п. 22, где концентрация фосфата натрия составляет приблизительно 10 мМ.
27. Фармацевтическая композиция по п. 26, где фосфат натрия представляет собой гептагидрат двухосновного фосфата натрия.
28. Фармацевтическая композиция по п. 21, где концентрация фосфата натрия составляет от приблизительно 1 мг/мл до приблизительно 10 мг/мл.

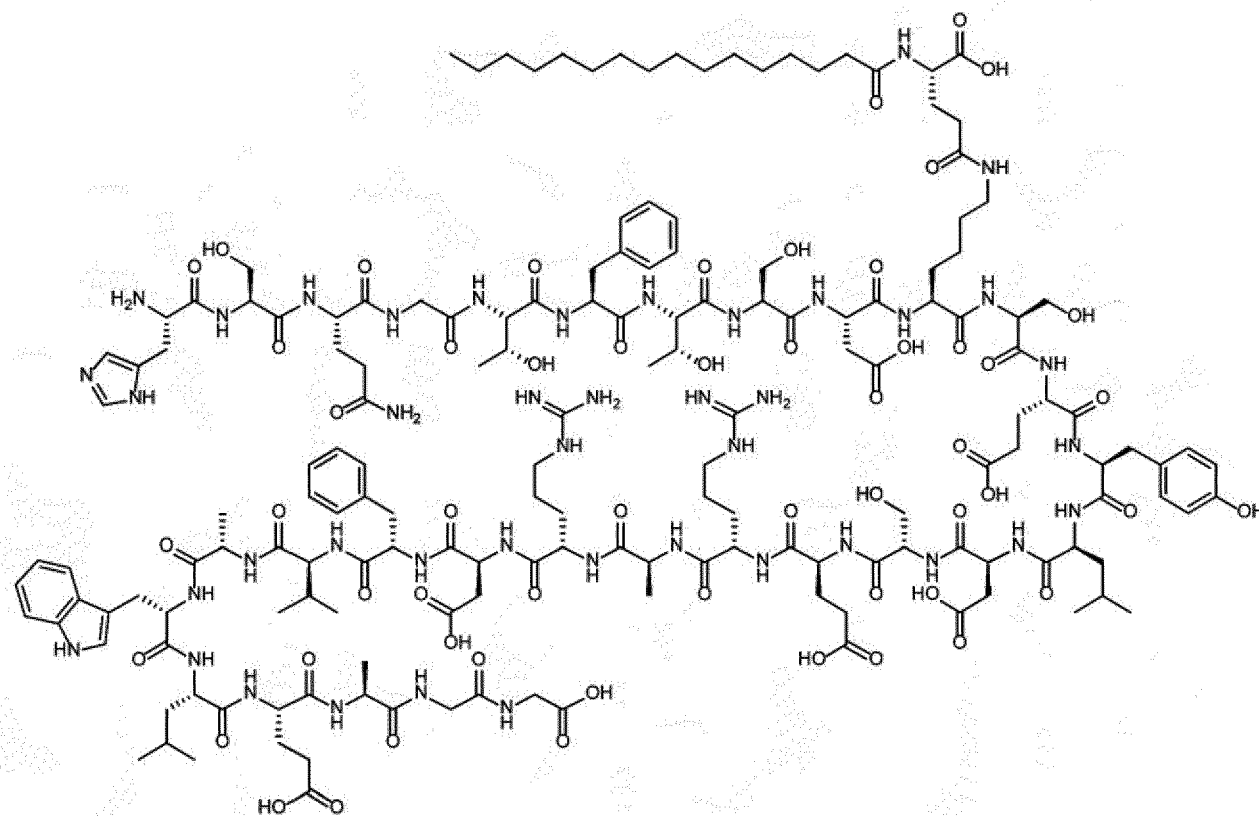
29. Фармацевтическая композиция по п. 28, где концентрация фосфата натрия составляет приблизительно 5,25 мг/мл.
30. Фармацевтическая композиция по любому из п. 21, п. 28 и п. 29, где фосфат натрия включает моногидрат одноосновного фосфата натрия и гептагидрат двухосновного фосфата натрия.
31. Фармацевтическая композиция по п. 30, где концентрация моногидрата одноосновного фосфата натрия составляет приблизительно 0,13 мг/мл, и концентрация гептагидрата двухосновного фосфата натрия составляет приблизительно 5,12 мг/мл.
32. Фармацевтическая композиция по п. 28, где концентрация фосфата натрия составляет приблизительно 2,68 мг/мл.
33. Фармацевтическая композиция по п. 32, где фосфат натрия представляет собой гептагидрат двухосновного фосфата натрия.
34. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-33, где концентрация пептида, содержащего SEQ ID NO:4, составляет от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл.
35. Фармацевтическая композиция по п. 34, где концентрация пептида, содержащего SEQ ID NO:4, составляет приблизительно 1 мг/мл.
36. Фармацевтическая композиция по п. 34, где концентрация пептида, содержащего SEQ ID NO:4, составляет приблизительно 2 мг/мл.
37. Фармацевтическая композиция по п. 34, где концентрация пептида, содержащего SEQ ID NO:4, составляет приблизительно 5 мг/мл.
38. Фармацевтическая композиция, содержащая от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл пептида, содержащего SEQ ID NO:4, сорбит в

концентрации от приблизительно 190 мМ до приблизительно 250 мМ, фосфат натрия в концентрации от приблизительно 5 мМ до приблизительно 25 мМ и от приблизительно 0,27% вес/об. до приблизительно 0,45% вес/об. мета-крезола, и где рН фармацевтической композиции составляет от приблизительно 7,9 до приблизительно 8,4.

39. Фармацевтическая композиция, содержащая от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл пептида, содержащего SEQ ID NO:4, сорбит в концентрации приблизительно 220,3 мМ, фосфат натрия в концентрации приблизительно 20,1 мМ и приблизительно 0,31% вес/об. мета-крезола, и где рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 8,1.
40. Фармацевтическая композиция, содержащая от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл пептида, содержащего SEQ ID NO:4, сорбит в концентрации приблизительно 220,3 мМ, фосфат натрия в концентрации приблизительно 20 мМ и приблизительно 0,31% вес/об. мета-крезола, и где рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 8,1.
41. Фармацевтическая композиция по п. 39 или п. 40, где фосфат натрия включает моногидрат одноосновного фосфата натрия и гептагидрат двухосновного фосфата натрия.
42. Фармацевтическая композиция, содержащая от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл пептида, содержащего SEQ ID NO:4, сорбит в концентрации приблизительно 220,3 мМ, фосфат натрия в концентрации приблизительно 10 мМ и приблизительно 0,31% вес/об. мета-крезола, и где рН фармацевтической композиции составляет приблизительно 8,1.
43. Фармацевтическая композиция по п. 42, где фосфат натрия представляет собой гептагидрат двухосновного фосфата натрия.
44. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 38-43, содержащая гидроксид натрия.

45. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 38-44, содержащая приблизительно 1 мг/мл пептида, содержащего SEQ ID NO:4.
46. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 38-44, содержащая приблизительно 2 мг/мл пептида, содержащего SEQ ID NO:4.
47. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 38-44, содержащая приблизительно 5 мг/мл пептида, содержащего SEQ ID NO:4.
48. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-47, где композиция представляет собой жидкость.
49. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-48, где композиция предназначена для парентерального введения.
50. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 1-49, где композиция предназначена для подкожного введения.
51. Шприц, флакон или шприц-ручка, содержащие фармацевтическую композицию по любому из пп. 1-50, где необязательно шприц, флакон или шприц-ручка представляют собой многодозовые шприц, флакон или шприц-ручку.
52. Способ лечения неалкогольного стеатогепатита (NASH) или неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD), включающий введение субъекту-человеку, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции по любому из пп. 1-50.
53. Способ уменьшения жира в печени, включающий введение субъекту-человеку, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции по любому из пп. 1-50.
54. Способ лечения сахарного диабета 2 типа, включающий введение человеку, нуждающемуся в этом, фармацевтической композиции по любому из пп. 1-50.

55. Способ по любому из пп. 52-54, где пептид вводят ежедневно, при этом необязательно пептид вводят один раз в день.
56. Способ по любому из пп. 52-55, где пептид вводят путем инъекции, при этом необязательно инъекция является подкожной.
57. Способ по любому из пп. 52-56, где введение является дополнением к режиму питания и физической нагрузке.

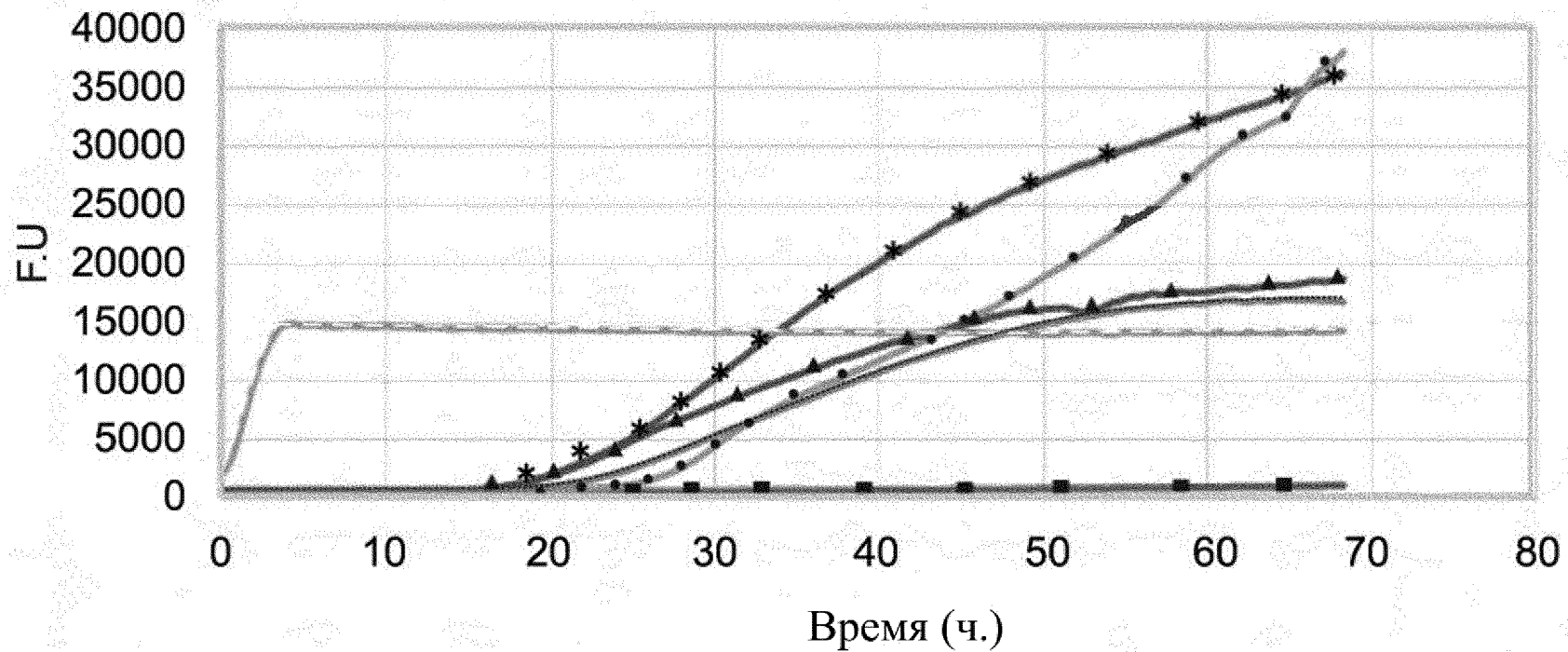


Молекулярная формула: $C_{167}H_{252}N_{42}O_{55}$

Молекулярная масса: 3728,03618

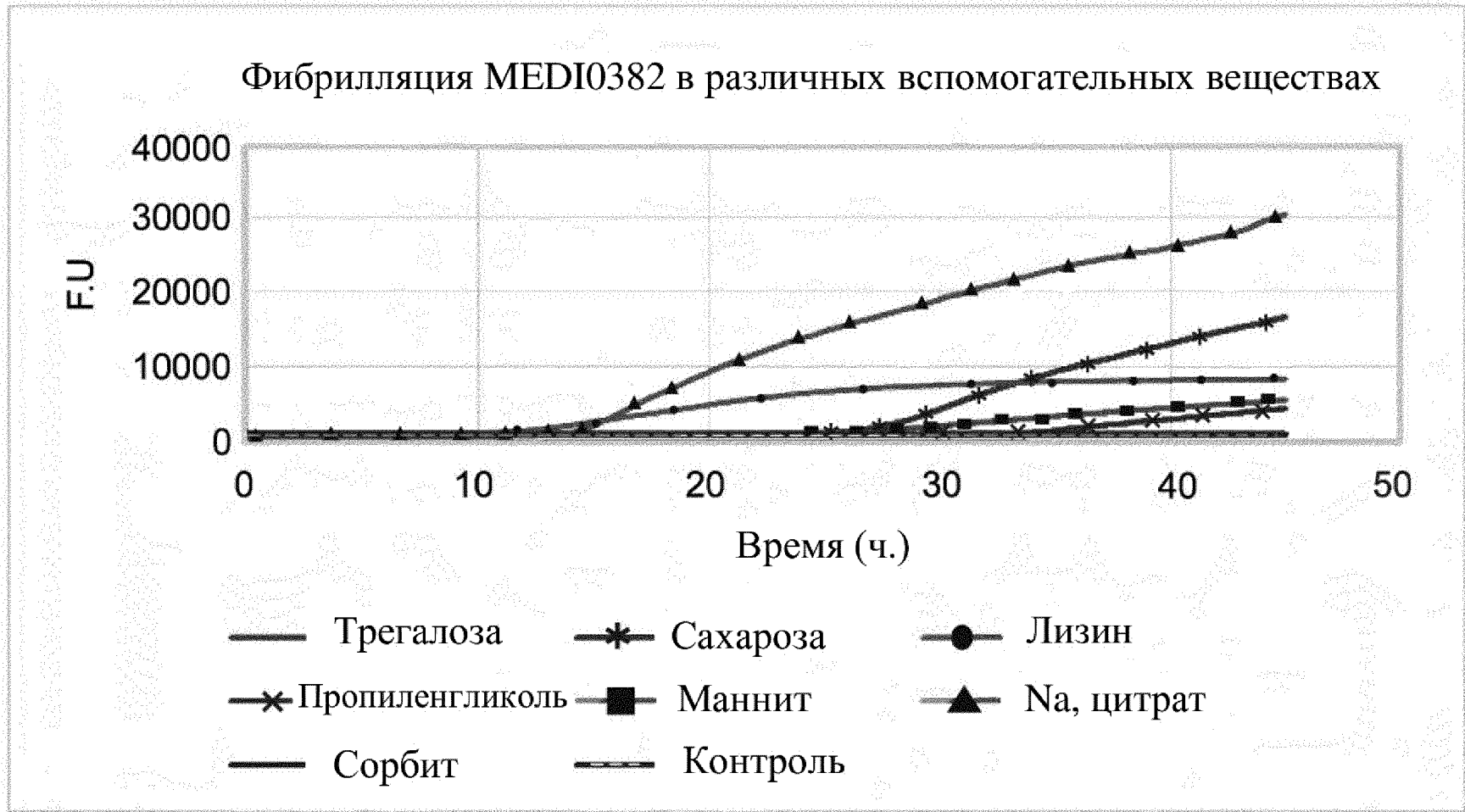
HisSerGlnGlyThrPheThrSerAspLys[Glu.C(O)C16]SerGluTyrLeuAspSer
GluArgAlaArgAspPheValAlaTrpValGluAlaGlyGly (SEQ ID NO:1)

Фиг. 1



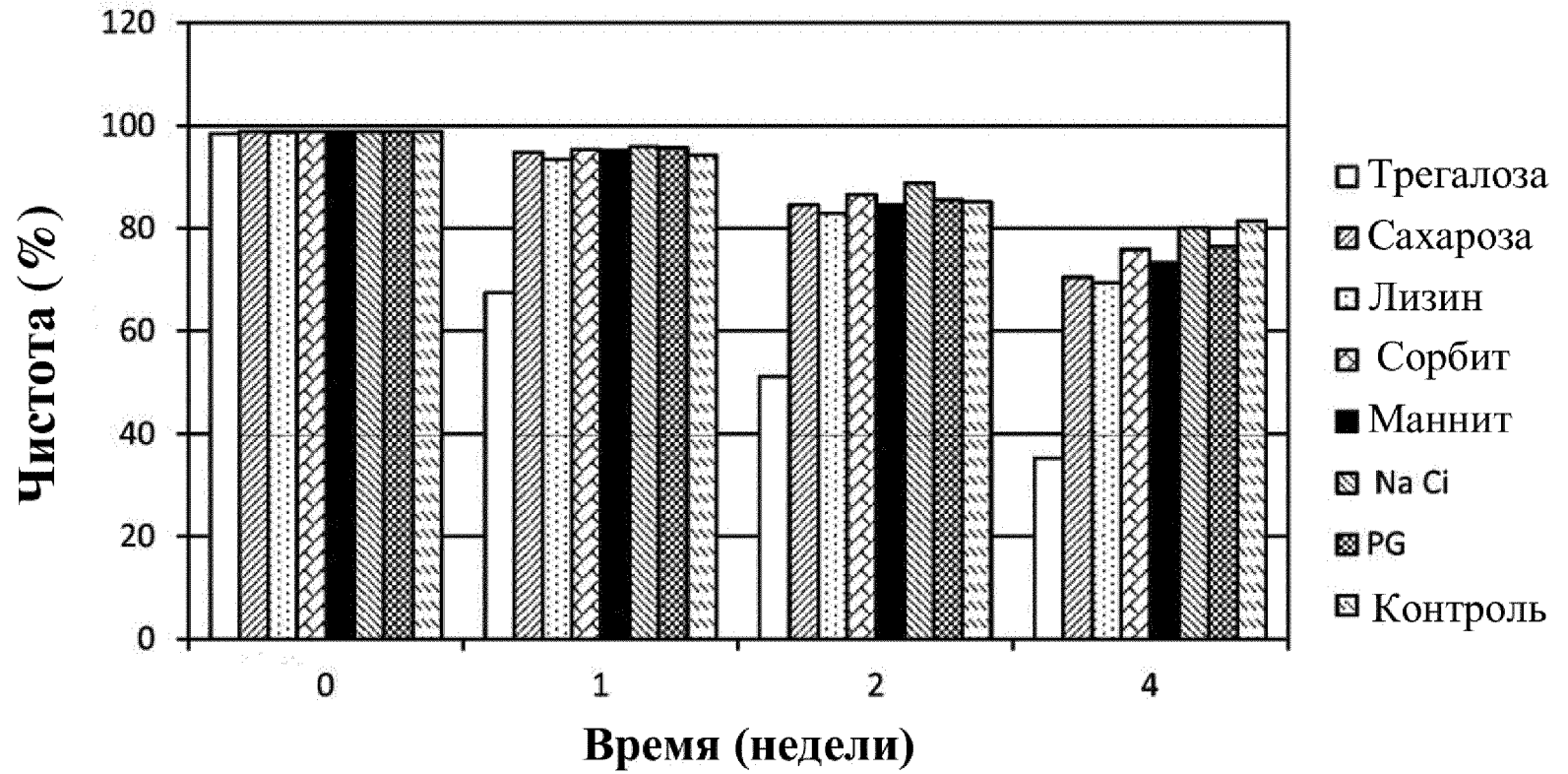
- Контроль, pH 7,5
- * 75 мМ аргинин
- 25 мМ глутаминовая кислота
- ▲ 25 мМ гистидин
- 25 мМ цитрат
- 100 мМ MgCl (pH 7,0)

Фиг. 2



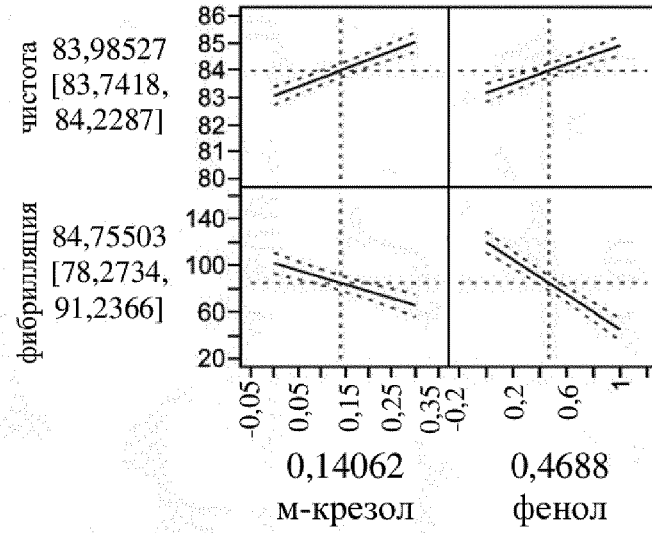
Фиг. 3

Чистота 40С

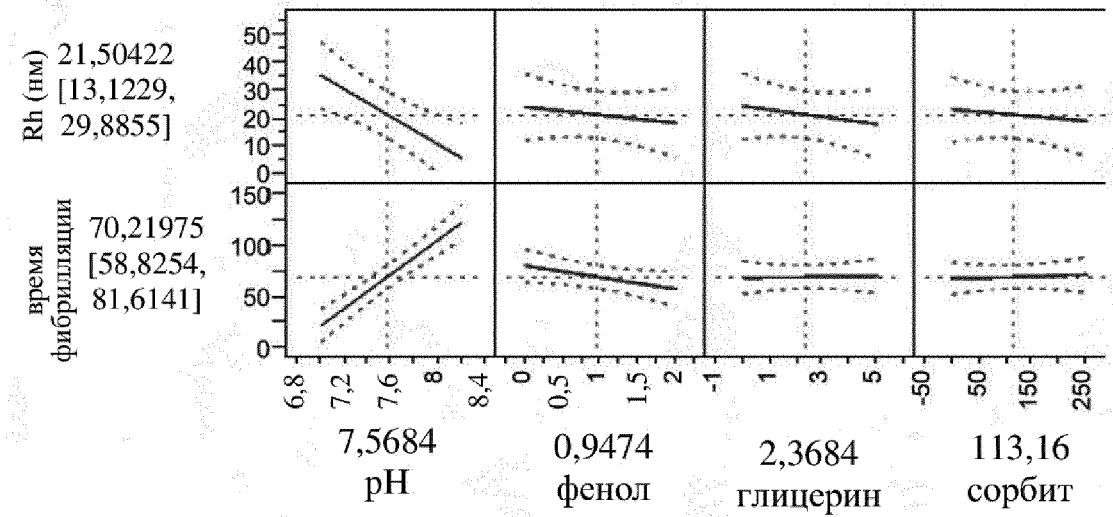


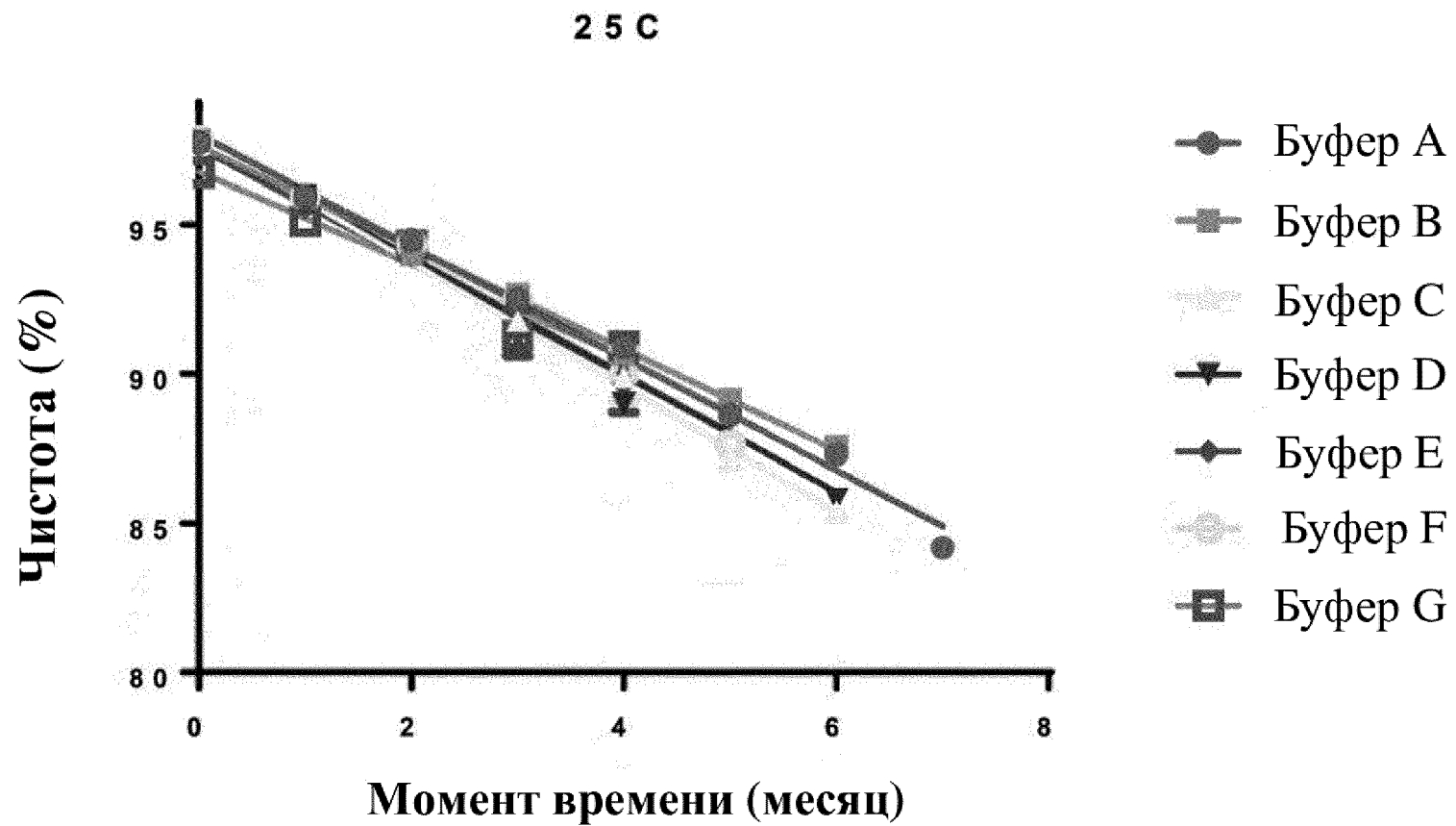
Фиг. 4

Фиг. 5

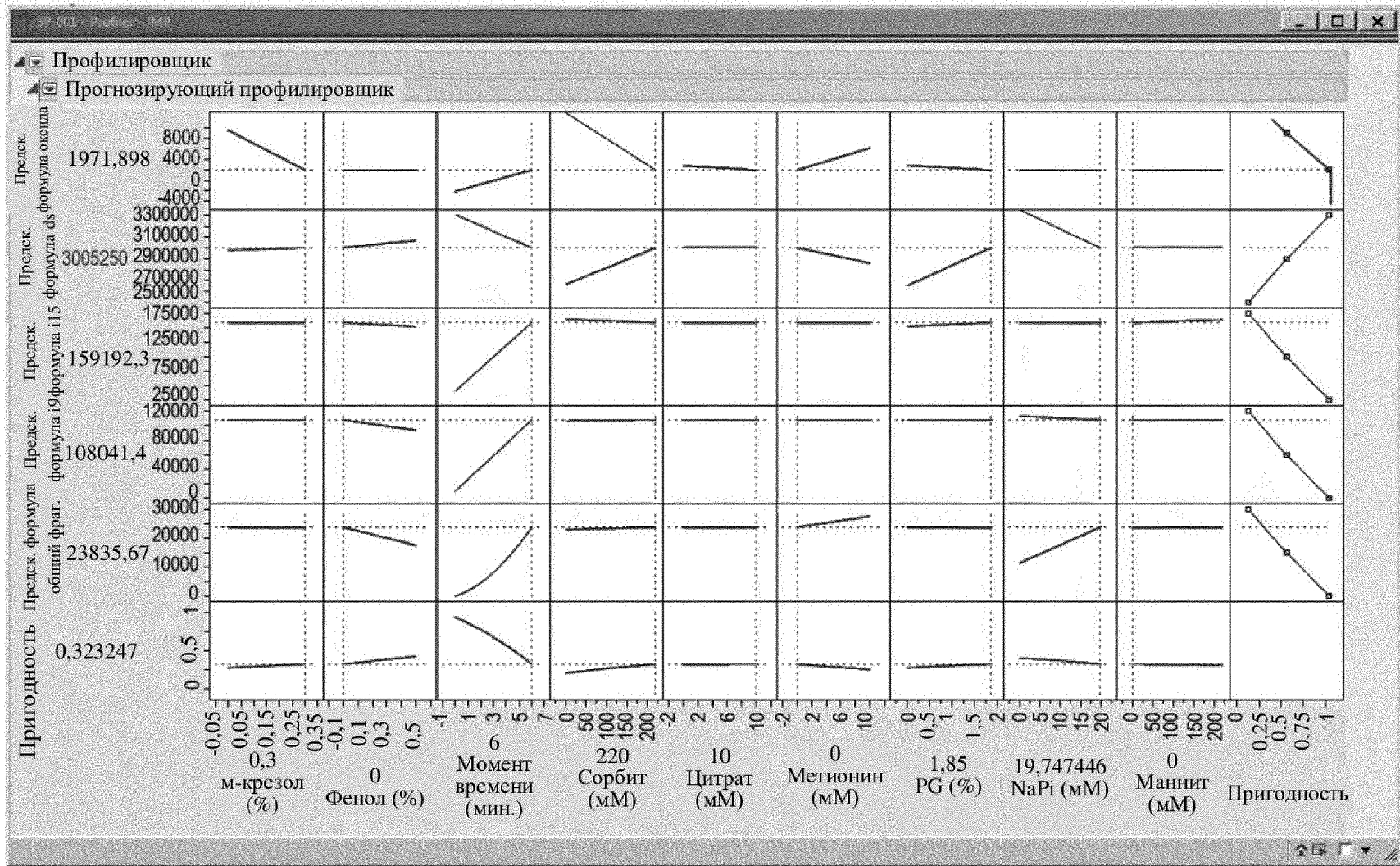


Фиг. 6



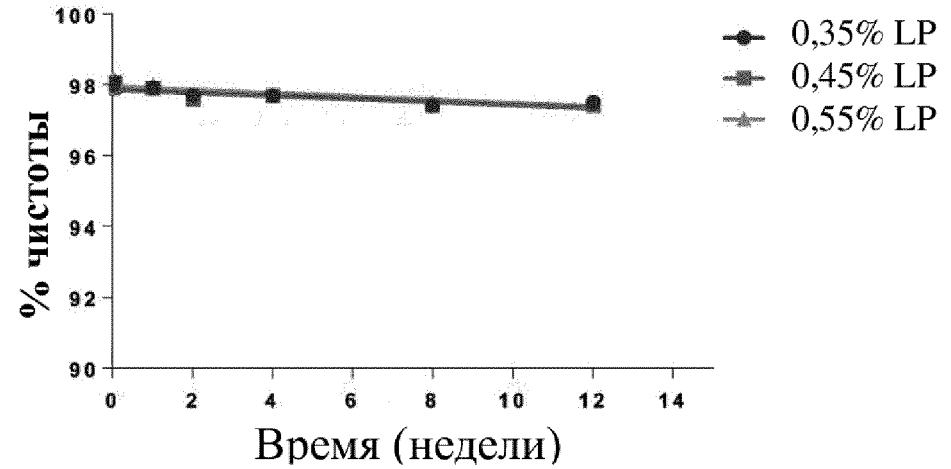


Фиг. 7

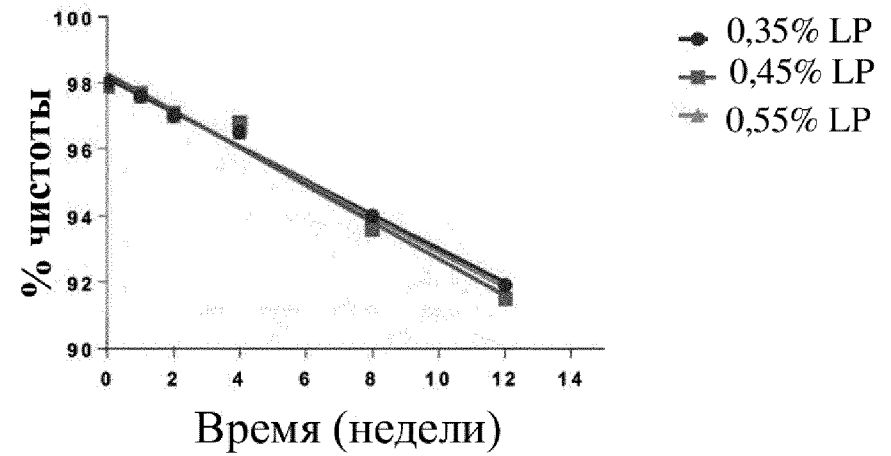


Фиг. 8

5С – 1 мг/мг жидкий фенол

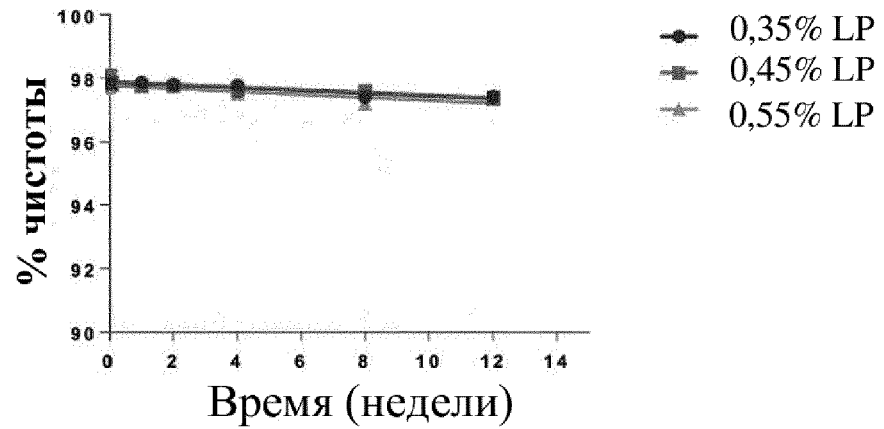


25С – 1 мг/мг жидкий фенол

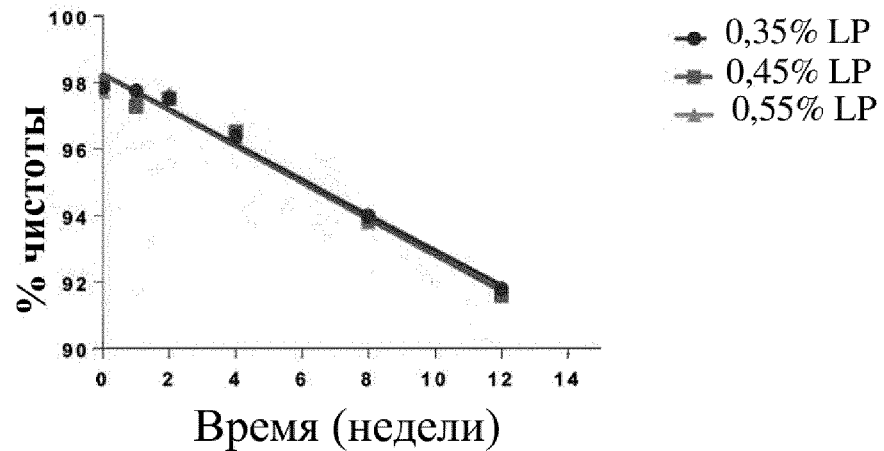


Фиг. 9

5С – 1 мг/мг твердый фенол

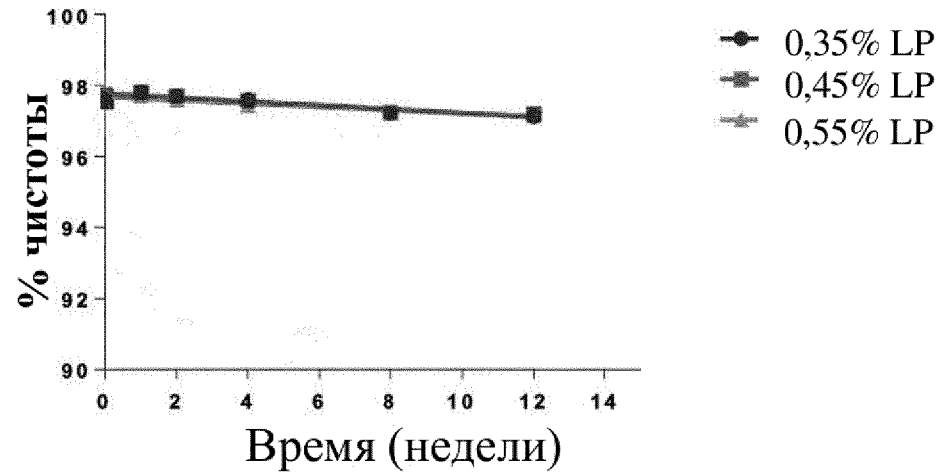


25С – 1 мг/мг твердый фенол

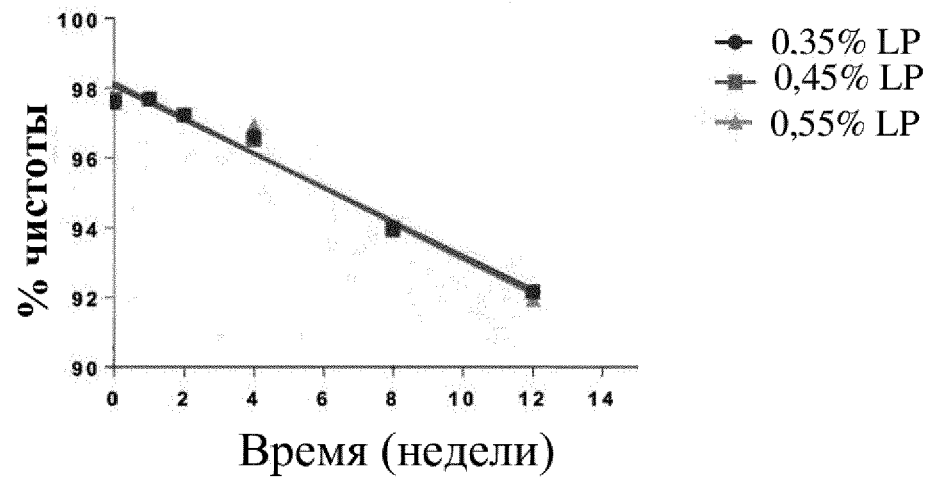


Фиг. 10

5С – 2 мг/мг твердый фенол

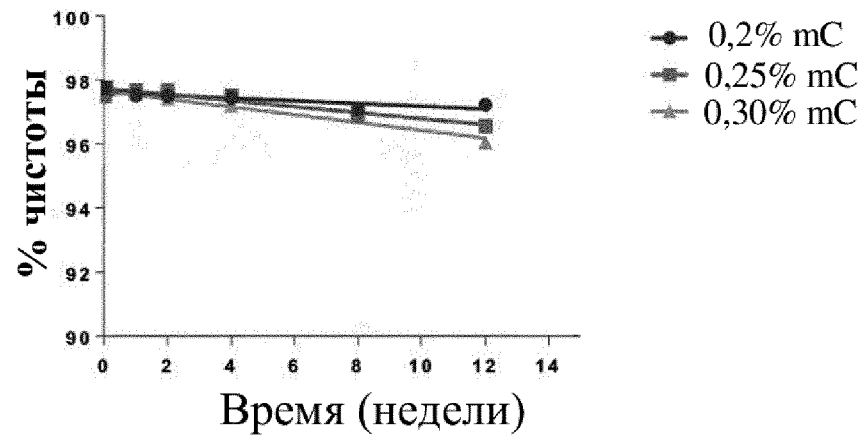


25С – 2 мг/мг твердый фенол

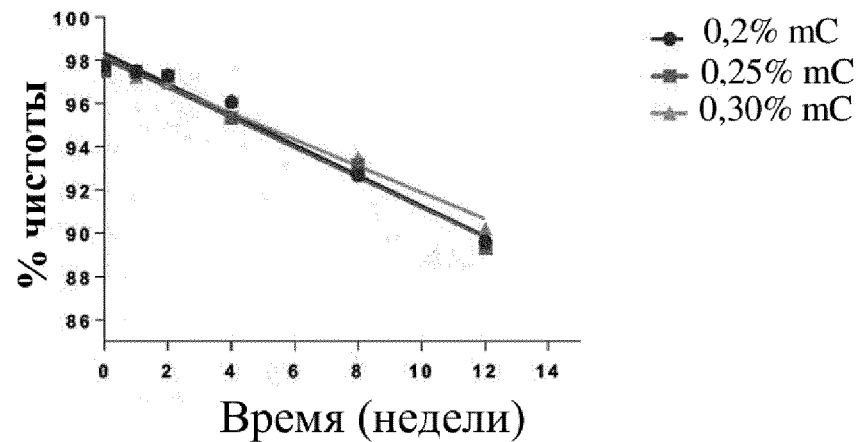


Фиг. 11

5С – 1 мг/мг м-крезол

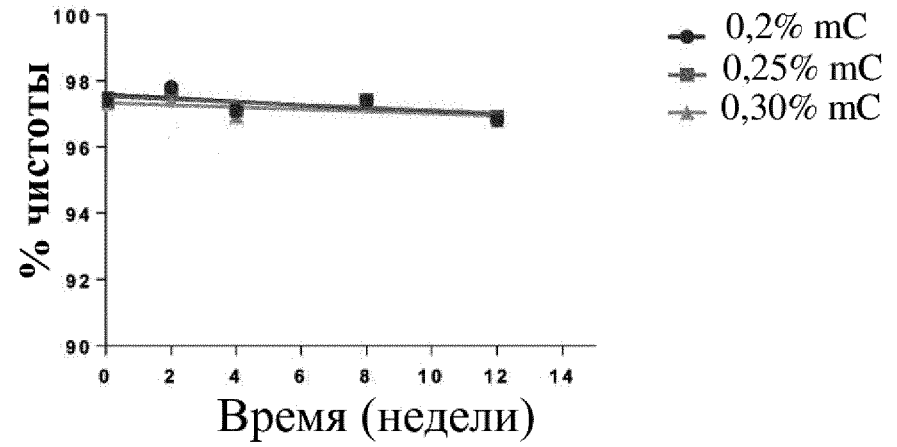


25С – 1 мг/мг м-крезол

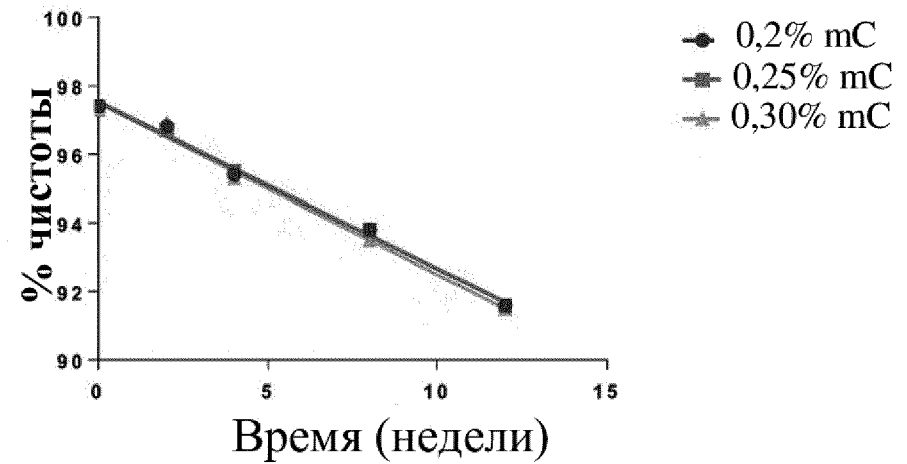


Фиг. 12

5С – 1 мг/мг м-крезол

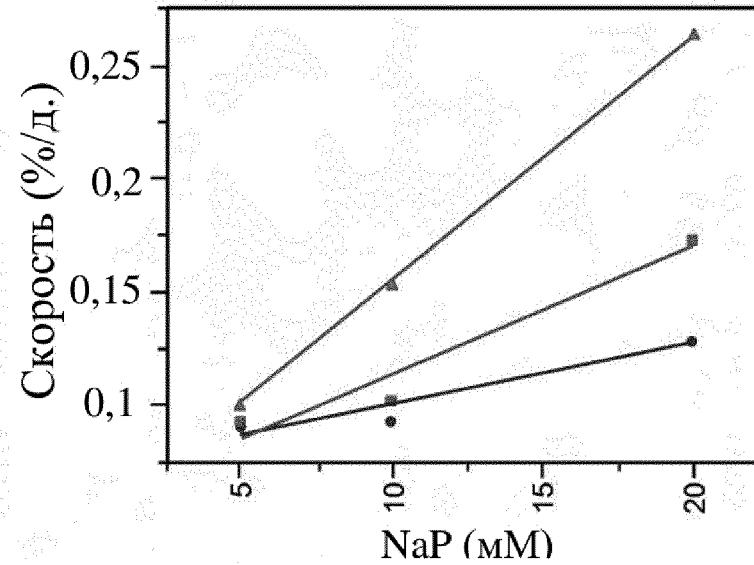


25С – 1 мг/мг м-крезол



Фиг. 13

График регрессии



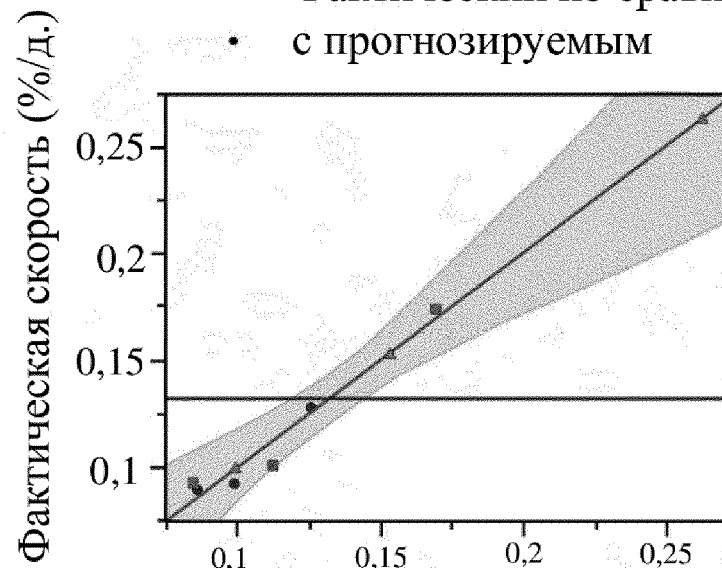
- Линия соответствия для NaP типа [ди]
- ▲ Линия соответствия для NaP типа [смешанный]
- Линия соответствия для NaP типа [моно]

| Исследования эффекта | | | | | |
|----------------------|-------|----|-----------------|-------------|----------|
| Источник | Nparm | DF | Сумма квадратов | Отношение F | Prob > F |
| NaP (mM) | 1 | 1 | 0,01438190 | 151,4337 | 0,0012* |
| Тип NaP | 2 | 2 | 0,00756245 | 39,8143 | 0,0069* |
| NaP (mM)* тип NaP | 2 | 2 | 0,00402225 | 21,1761 | 0,0170* |

Все значения значимы

Фиг. 14А

Фактический по сравнению с прогнозируемым



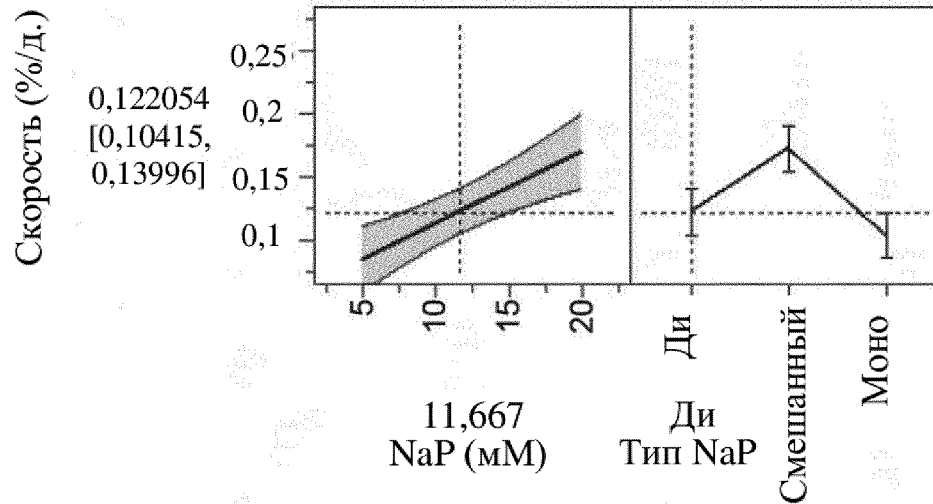
Скорость (%/д.) Прогнозируемый RMSE=0,0097 RSq=0,99 P-значение=0,0038

- Линия соответствия для NaP типа [ди]
- ▲ Линия соответствия для NaP типа [смешанный]
- Линия соответствия для NaP типа [моно]

| Таблица средних значений средних квадратов | | | | | |
|--|------------------------------------|--------------------|------------|------------|------------------|
| Уровень | Среднее значение средних квадратов | Стандартная ошибка | Ниже 95% | Выше 95% | Среднее значение |
| Ди | 0,12205208 | 0,00562647 | 0,10414614 | 0,13995803 | 0,122052 |
| Смешанный | 0,17212473 | 0,00562647 | 0,15421878 | 0,19003067 | 0,172125 |
| Моно | 0,10349053 | 0,00562647 | 0,08558458 | 0,12139648 | 0,103491 |

Фиг. 14В

• Профилировщик



Средние значения LS различий HSD Тьюки

$\alpha=0,050$ $Q=4,17871$

| Уровень | | Среднее значение средних квадратов |
|-----------|---|------------------------------------|
| Смешанный | A | 0,17212473 |
| Ди | B | 0,12205208 |
| Моно | B | 0,10349053 |

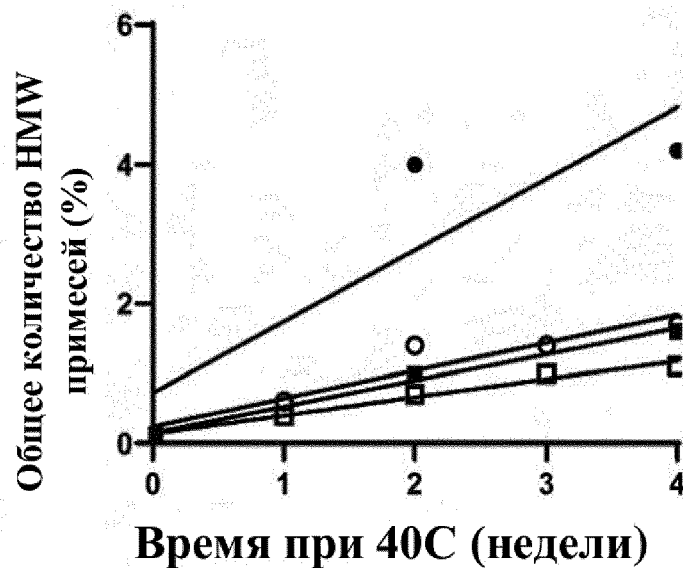
Нет значимой разницы между скоростями одноосновного и двухосновного

| Уровень | | Среднее значение средних квадратов |
|-----------|---|------------------------------------|
| Смешанный | A | 0,17212473 |
| Ди | B | 0,12205208 |
| Моно | B | 0,10349053 |

Уровни, не связанные одной буквой, существенно отличаются

Фиг. 14С

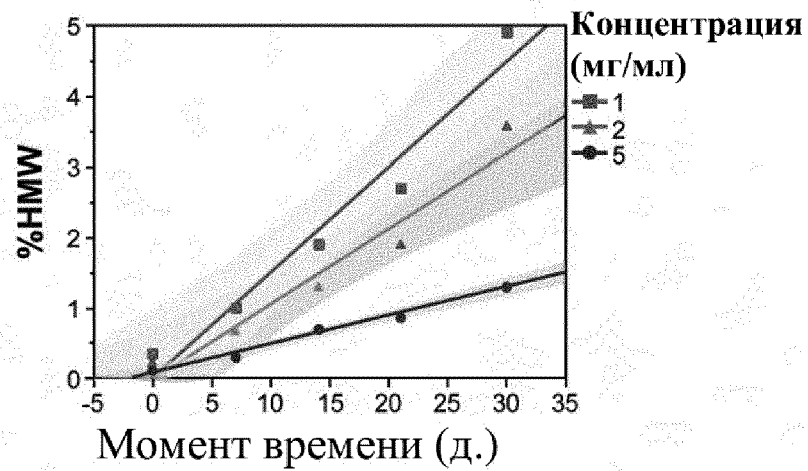
Влияние типа буфера на НМВ примеси при 40С в стеклянных флаконах 2R (наполнение 1 мл)



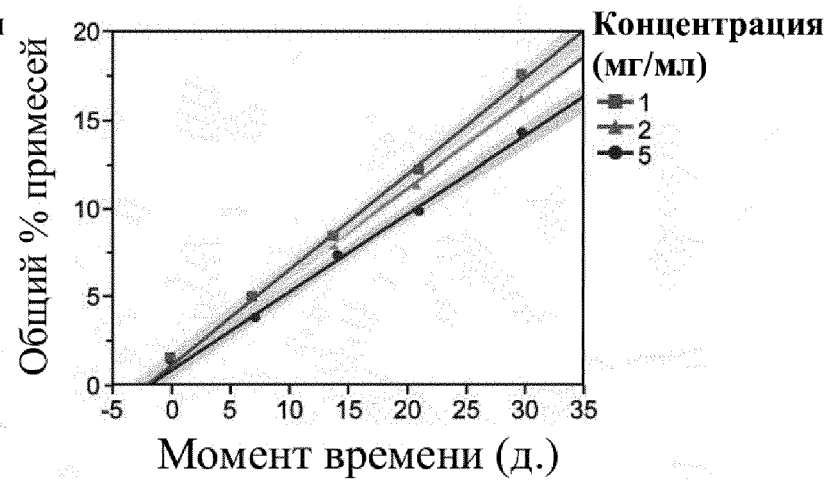
- 1 мг/мл MEDI0382, 10 мМ двухосновный фосфат натрия, 220мМ сорбитол, 0,31% м-крезол, рН 8,1
- 5 мг/мл MEDI0382, 10 мМ двухосновный фосфат натрия, 220мМ сорбитол, 0,31% м-крезол, рН 8,1
- 1 мг/мл MEDI0382, 10 мМ основной Tris, 220мМ сорбитол, 0,31% м-крезол, рН 8,1
- 5 мг/мл MEDI0382, 10 мМ основной Tris, 220мМ сорбитол, 0,31% м-крезол, рН 8,1

Фиг. 15

Всего НМВ, основной пик (HP-SEC)

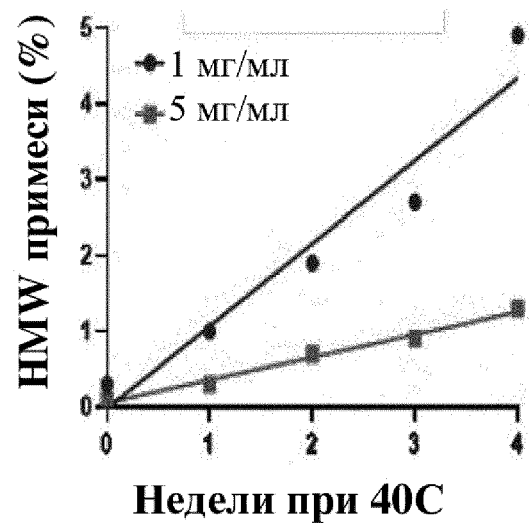


Всего примесей, основной пик (RP-UPLS)

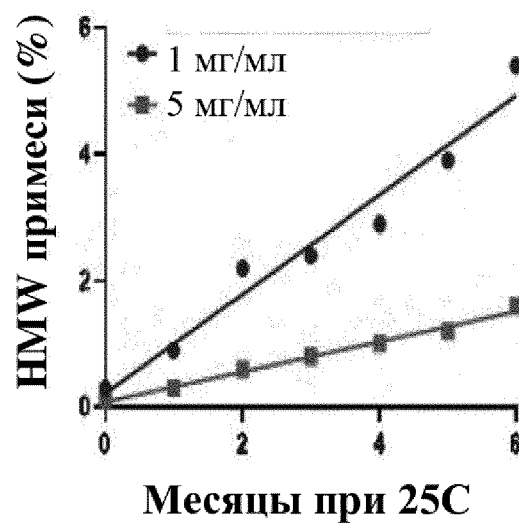


Фиг. 16А

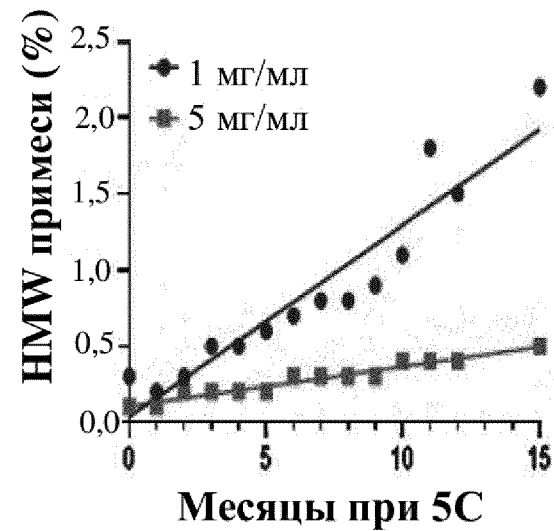
Влияние концентрации пептида при 40С



Влияние концентрации пептида при 25С

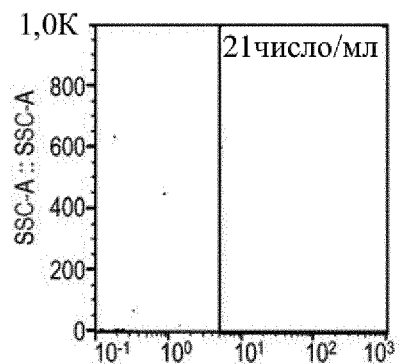


Влияние концентрации пептида при 5С

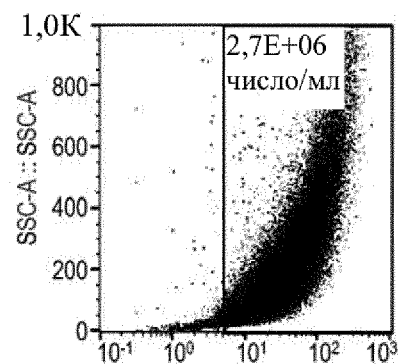


Фиг. 16В

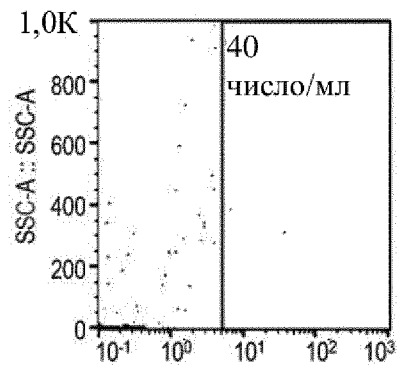
**Буфер состава
(отрицательный контроль)**



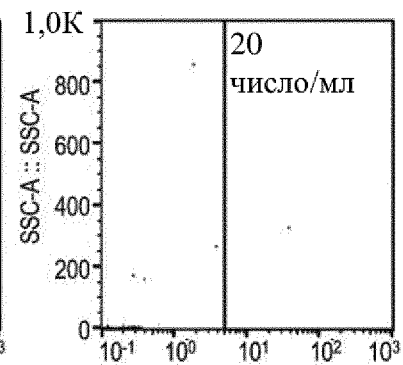
**Предварительно
образованные фибриллы
(положительный контроль)**



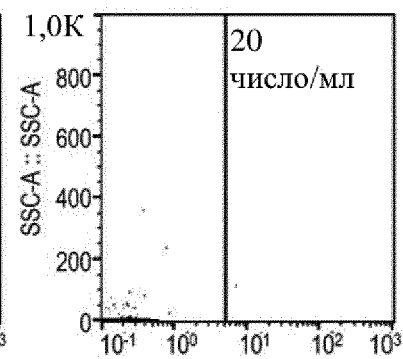
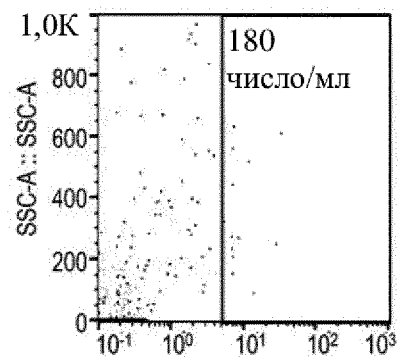
T0



T12M (5°C)

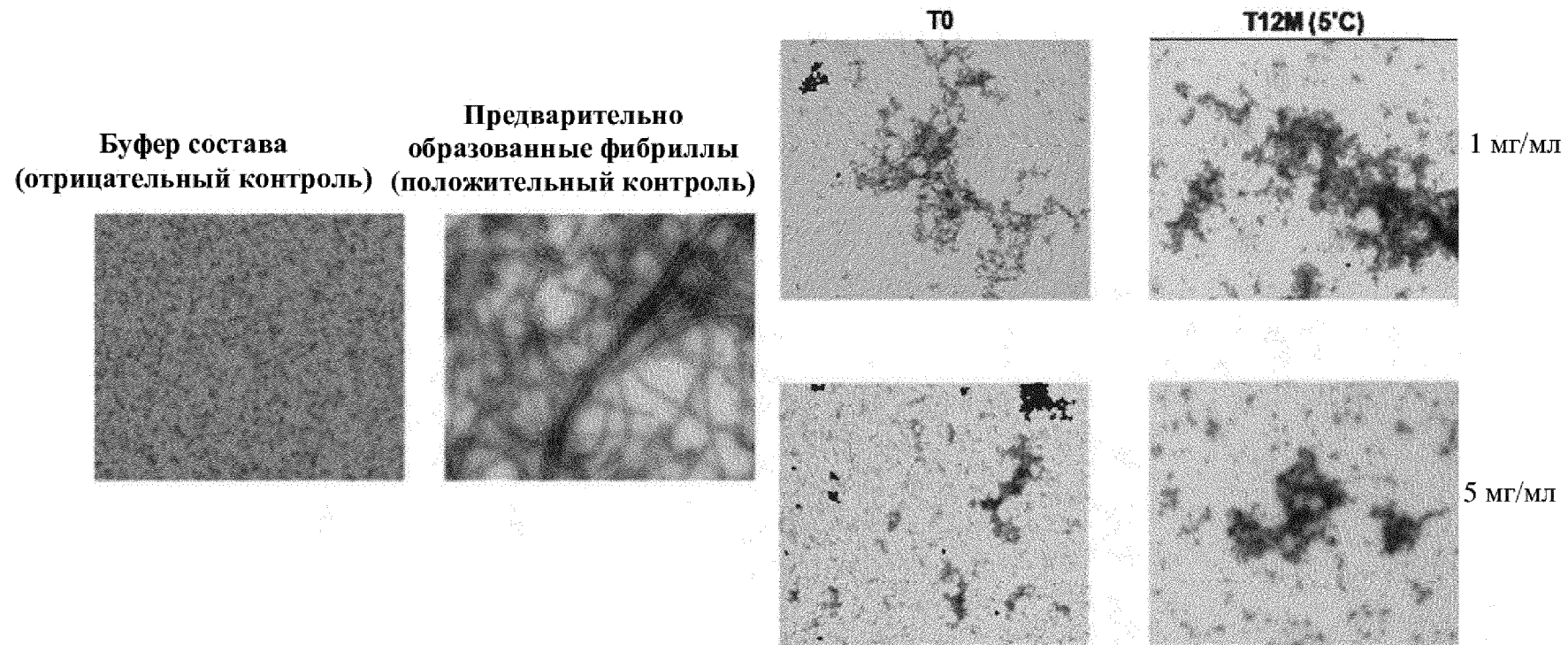


1 мг/мл



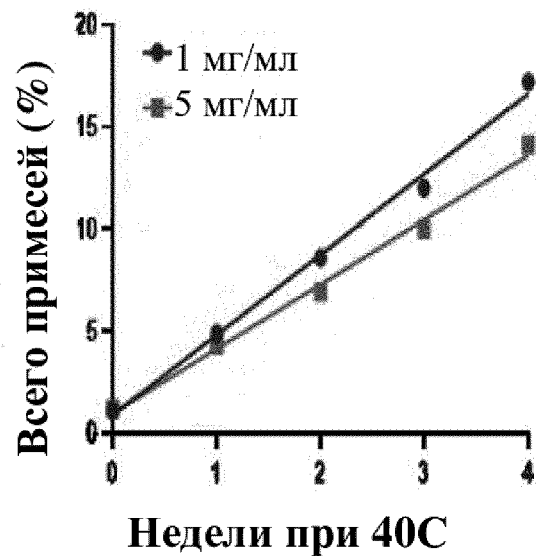
5 мг/мл

Фиг. 17

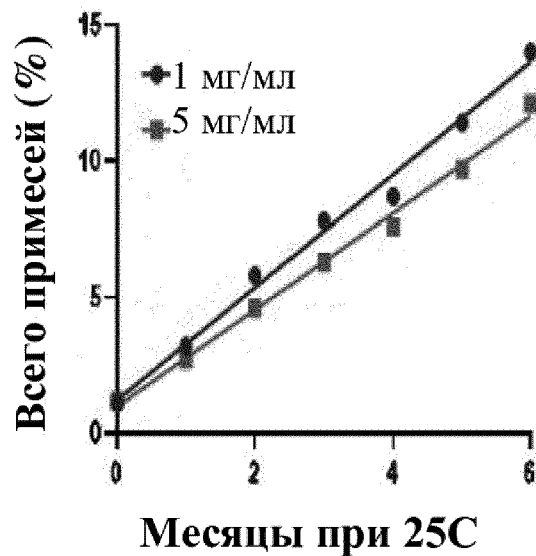


Фиг. 18

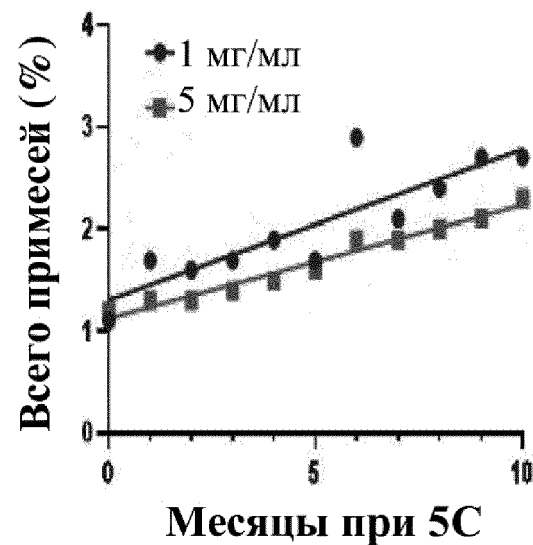
Влияние концентрации пептида при 40С



Влияние концентрации пептида при 25С

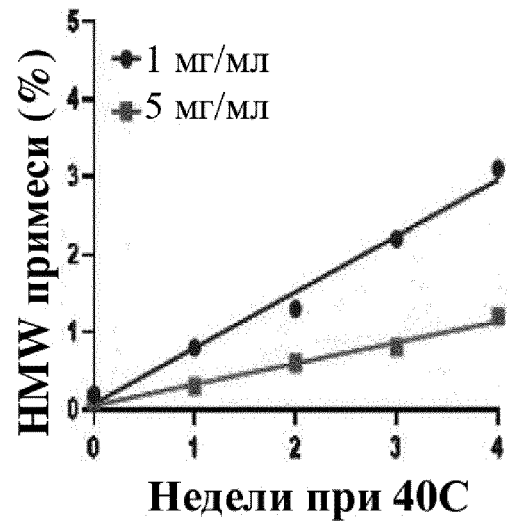


Влияние концентрации пептида при 5С

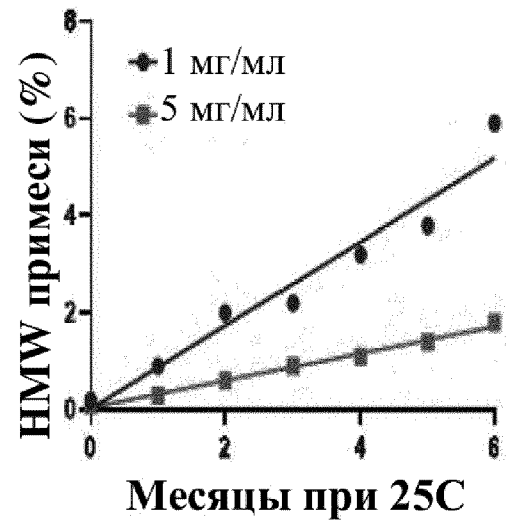


Фиг. 19

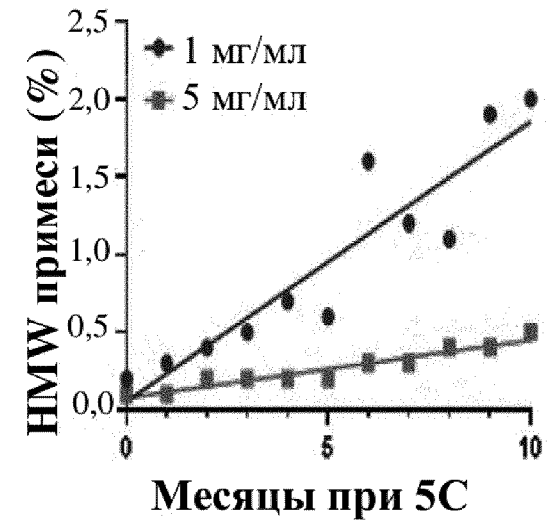
Влияние концентрации пептида при 40С



Влияние концентрации пептида при 25С

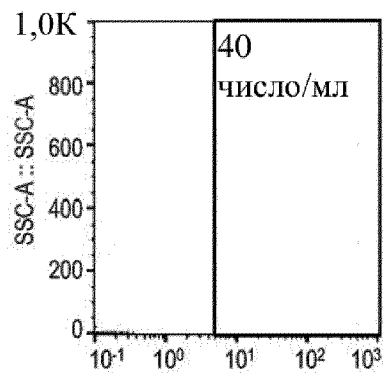


Влияние концентрации пептида при 5С

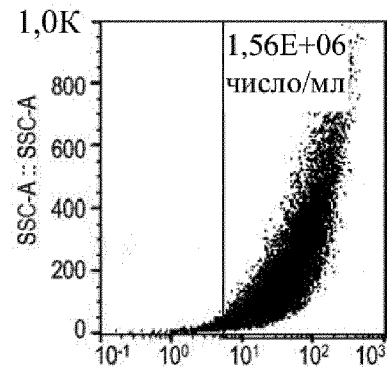


Фиг. 20

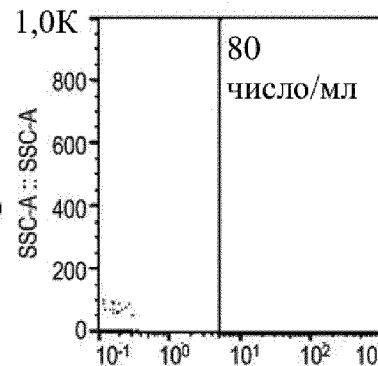
**Буфер состава
(отрицательный контроль)**



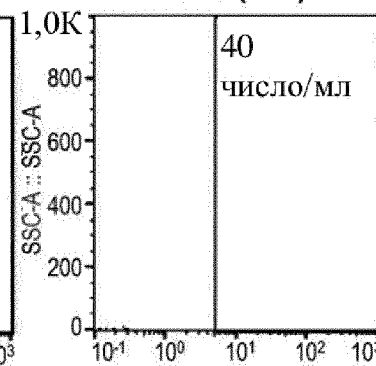
**Предварительно
образованные фибриллы
(положительный контроль)**



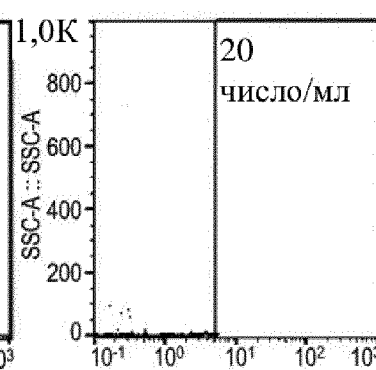
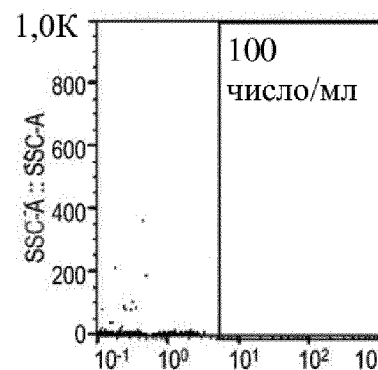
T0



T9M (5°C)

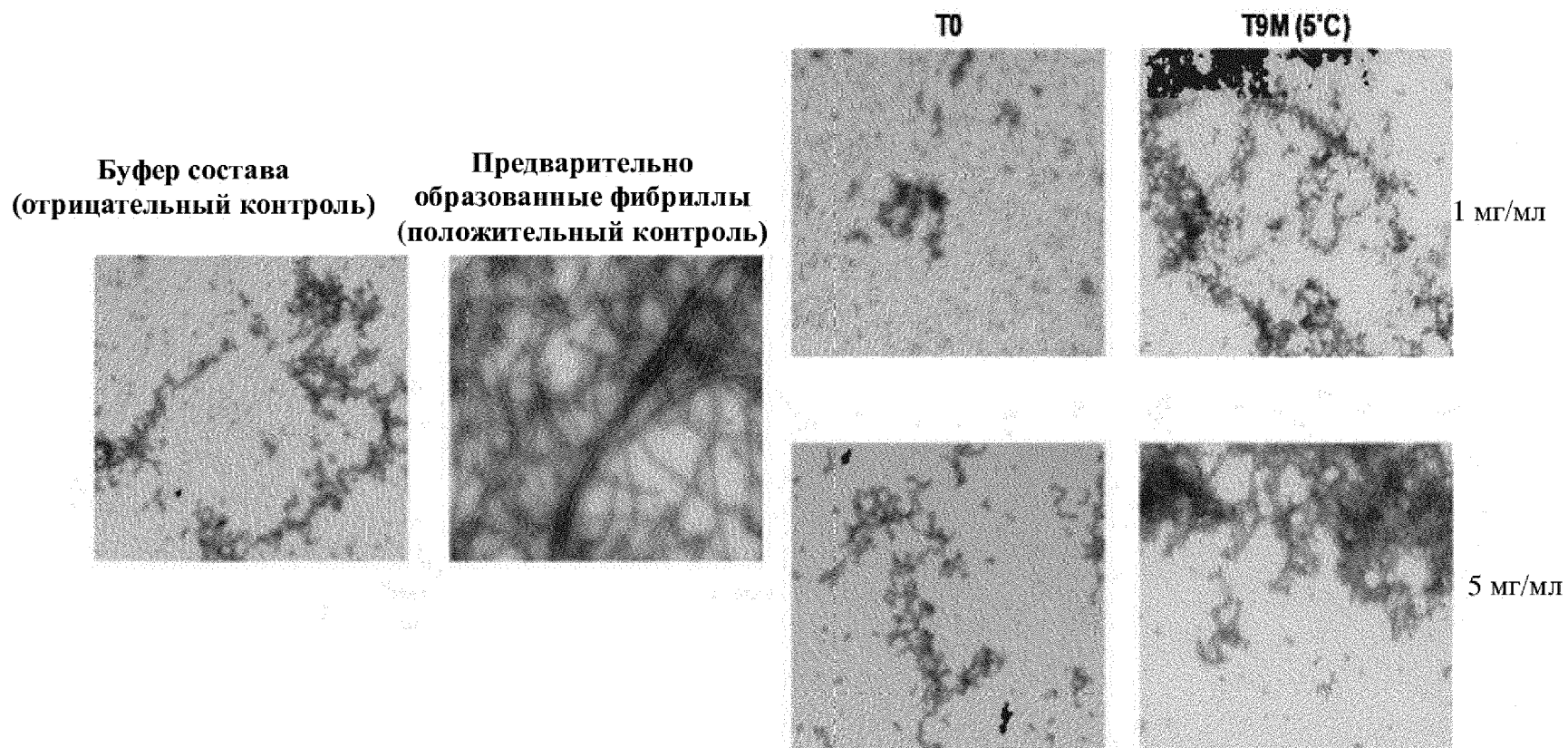


1 мг/мл

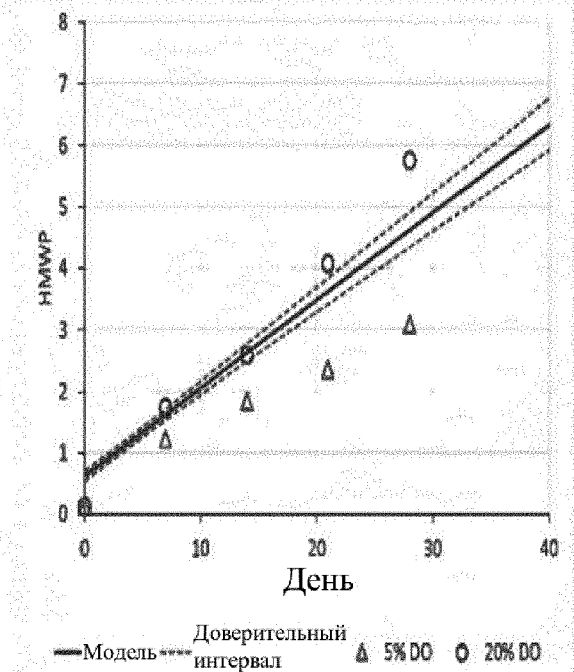
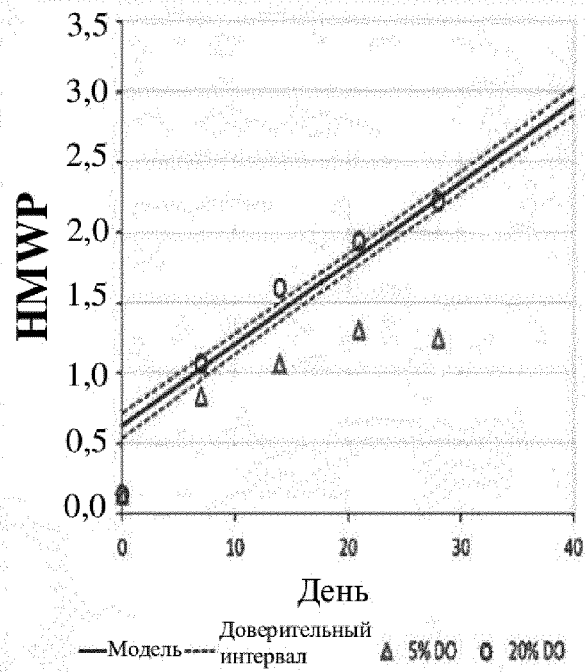
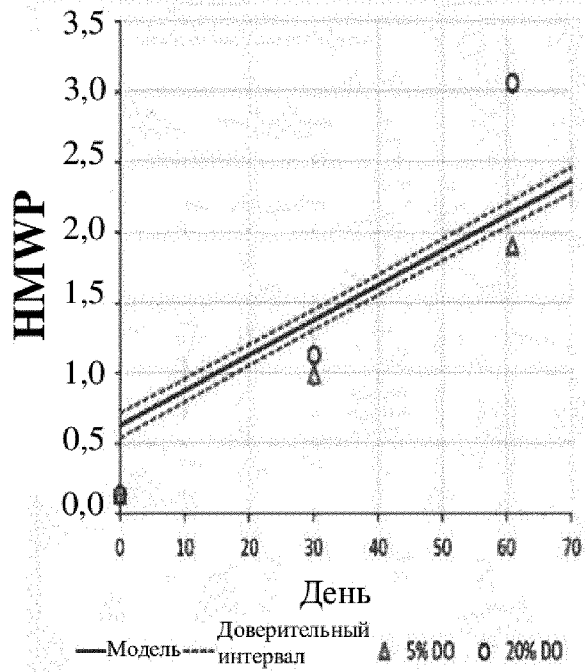


5 мг/мл

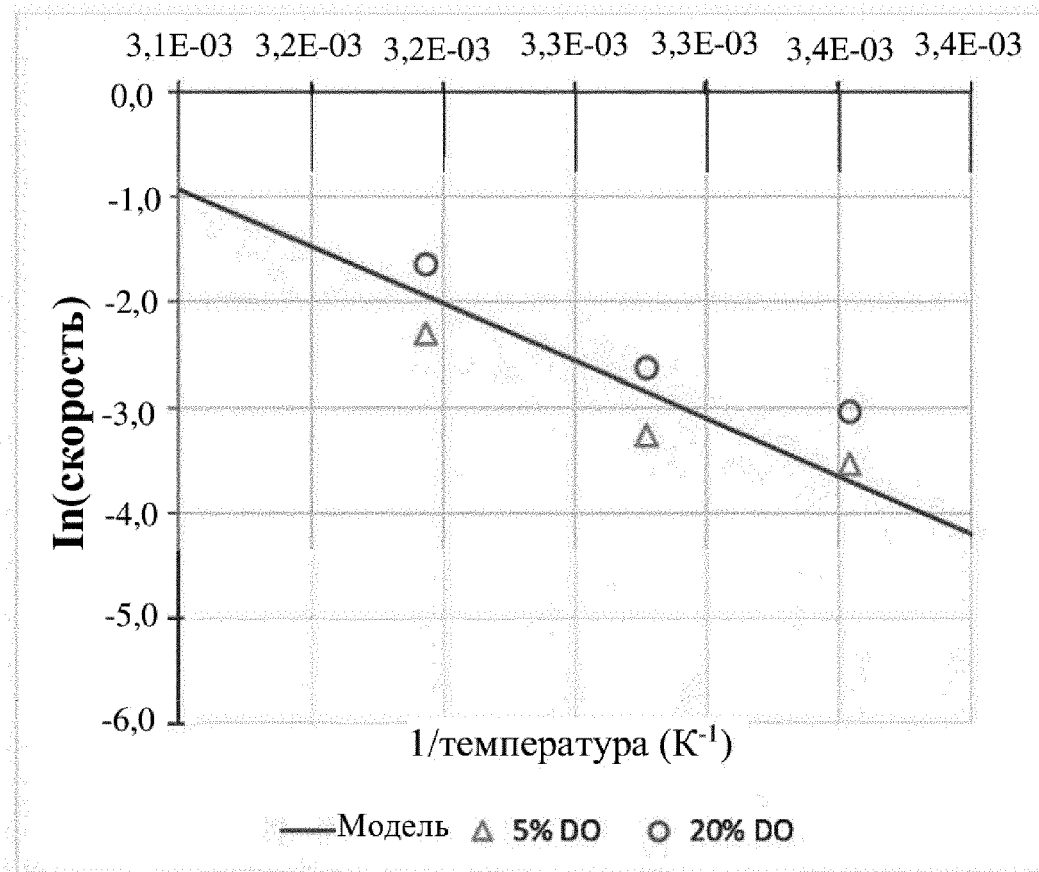
Фиг. 21



Фиг. 22



Фиг. 23



Фиг. 24